

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA

IGOR RAFAEL PRAXEDES DE SALES

***Cissampelos sympodialis* EICHL. (MENISPERMACEAE):
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMOTILIDADE E
ANTIDIARREICA *IN VIVO***

JOÃO PESSOA

2014

IGOR RAFAEL PRAXEDES DE SALES

***Cissampelos sympodialis* EICHL. (MENISPERMACEAE):
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMOTILIDADE E
ANTIDIARREICA *IN VIVO***

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
em atendimento à exigência de conclusão do
curso de Farmácia (Farmacêutico Generalista),
do Departamento de Ciências Farmacêuticas,
do Centro de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal da Paraíba.**

ORIENTADORA: Profa. Dra. Leônia Maria Batista

JOÃO PESSOA

2014

S163c Sales, Igor Rafael Praxedes de.

Cissampelos sympodialis EICHL. (menispermaceae): avaliação das atividades antimotilidade e antidiarreica in vivo / Igor Rafael Praxedes de Sales. -- João Pessoa: [s.n.], 2014.

55f.: il. -

Orientadora: Leônia Maria Batista.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

1.Motilidade gastrointestinal . 2. Menispermaceae. 3.Atividades farmacológicas.

BS/CCS /UFPB

CDU: 576.322(043.2)

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA

IGOR RAFAEL PRAXEDES DE SALES

***Cissampelos sympodialis* EICHL. (MENISPERMACEAE):**
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMOTILIDADE E
ANTIDIARREICA *IN VIVO*

Monografia aprovada em ____/____/____ para obtenção do título
de Farmacêutico Generalista.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Leônia Maria Batista
(Orientadora)

Prof. Dr. Fabio Santos de Souza
(Membro interno)

Prof. Dr. José Soares do Nascimento
(Membro externo)

Aos meus amados pais, Francisco de Sales e Vania Maria, por acreditarem na educação como maior investimento na formação de um indivíduo e por serem meus maiores exemplos de caráter e honestidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e da sabedoria e por me aceitar como filho diante das minhas imperfeições.

Aos meus pais, Francisco de Sales e Vania Maria pelos incansáveis esforços durante esses anos. Pelos valores mais simples aprendidos com vocês... muito obrigado pelo amor e pela compreensão.

Aos meus irmãos, Paula Rafaela e João Paulo, pelas boas lembranças que temos uns dos outros e pelo companheirismo e a sintonia que mantemos ainda que distante uns dos outros. Vocês carregam um pedaço de minha alma.

A minha melhor amiga e namorada, Hanna Jarine, que acompanhou de perto os dias de lutas na universidade e em todos eles fortalecemos os nossos laços de união. Muito obrigado pela sua companhia.

Aos familiares pela torcida, pelos bons momentos de reencontro e pelos ensinamentos da infância, especialmente minhas avós Antônia de Freitas e Francisca Praxedes.

A professora Leônia Batista, que me acompanhou durante toda a graduação, me abriu portas e me fez enxergar além do que eu poderia. Pelos conselhos, pelos ensinamentos... Serei eternamente grato por tudo.

Aos amigos, os distantes fisicamente e os que fiz nessa cidade, vocês tornaram os dias difíceis mais agradáveis e me ensinaram a respeitar todos os tipos de diferenças.

Aos meus colegas de turma, de laboratório e de apartamento, obrigado pelos bons momentos vividos nesses anos, pelo apoio dado sempre que precisei e pelo carinho que me foi dado.

Aos professores por acreditarem na educação como instrumento de mudança social, pelo “trabalho de formiguinha” que dinheiro algum poderá pagar. Obrigado por direcionarem o caminho de quem não consegue vê-lo.

Aos trabalhadores brasileiros que por meio do pagamento dos seus impostos me mantiveram esses anos em uma universidade pública.

Eu te desejo
Não parar tão cedo
Pois toda idade tem
Prazer e medo

E com os que erram
Feio e bastante
Que você consiga
Ser tolerante

Quando você ficar triste
Que seja por um dia
E não o ano inteiro
E que você descubra
Que rir é bom
Mas que rir de tudo
É desespero

Desejo
Que você tenha a quem amar
E quando estiver bem cansado
Ainda exista amor
Pra recomeçar (Frejat).

RESUMO

SALES, I.R.P. *Cissampelos sympodialis* EICHL. (MENISPERMACEAE): **AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMOTILIDADE E ANTIDIARREICA *IN VIVO***. 2014. Nº 55 pag. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharelado em Farmácia) – CCS/UFPB João Pessoa – PB.

Cissampelos sympodialis (Menispermaceae), conhecida como "Milona" tem o seu uso medicinal validado especialmente para o tratamento de diarreia e doenças respiratórias. Essa espécie é rica em alcaloides, metabólitos secundários que agregam as mais diversas atividades farmacológicas. Entre os alcaloides isolados de *C. sympodialis* destacam-se a warifteína e metilwarifteína. Este trabalho teve como objetivo avaliar as atividades antimotilidade e antidiarreica do extrato etanólico bruto obtido das partes aéreas de *C. sympodialis* (EEtOH-Cs) por meio dos modelos de esvaziamento gástrico, trânsito intestinal normal e diarreia induzida por óleo de rícino. Os dois primeiros modelos avaliaram a atividade antimotilidade, enquanto último foi utilizado para avaliar a atividade antidiarreica e investigado o possível mecanismo de ação da atividade antidiarréica da espécie em estudo. Os resultados indicaram que EEtOH-Cs não demonstrou atividade antimotilidade, mas apresentou atividade antidiarreica (para a dose de 500 mg/kg). Esta atividade está relacionada com a redução do acúmulo de fluido intestinal. A atividade antidiarreica pode ser atribuída aos compostos químicos já isolados e quantificados nesta espécie, principalmente alcalóides.

Palavras-chave: motilidade gastrintestinal, diarreia; *enteropooling* e *Cissampelos sympodialis*.

ABSTRACT

SALES, I.R.P. *Cissampelos sympodialis* EICHL. (MENISPERMACEAE): EVALUATION OF THE ANTIMOTILITY AND ANTIDIARRHEAL ACTIVITIES *IN VIVO*. 2014. Nº 55 pag. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharelado em Farmácia) – CCS/UFPB João Pessoa – PB.

Cissampelos sympodialis (Menispermaceae), known as "Milona" have a special verified medicinal use for the treatment of diarrhea and respiratory tract diseases. This species is rich in alkaloids , secondary metabolites that add the most diverse pharmacological activities , among alkaloids isolated from *C. sympodialis* out to warifteína and metilwarifteína. This study aims to evaluate the antimotility and antidiarrheal activity of the crude ethanolic extract obtained from aerial parts of *C. sympodialis* (EtOHE-Cs), by means of models of gastric emptying, intestinal normal transit and castor oil-induced diarrhea. The first two models evaluated the antimotility activity while the model of castor oil-induced diarrhea was used to evaluate the antidiarrheal activity by means of the latter was investigated the possible mechanism of action of antidiarrheal activity of the species under study. The results indicated that the EtOHE-Cs not shown antimotility activity but showed antidiarrheal activity (at the dose of 500 mg/kg). This activity is related to the reduction in the accumulation of intestinal fluid. The antidiarrheal activity can be attributed to chemical compounds already isolated and quantified in this species, mainly alkaloids.

Keywords: gastrointestinal motility, diarrhea; enteropooling and *Cissampelos sympodialis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Trato gastrintestinal.....	15
Figura 2: Camadas do TGI.....,	16
Figura 3: Contração e relaxamento do músculo liso.....	19
Figura 4: <i>Cissampelos sympodialis</i>	26
Figura 5: Alcaloides de <i>C. sympodialis</i>	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
AQ4	Aquaporina 4
NO	Óxido nítrico
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
OMS	Organização Mundial de Saúde
PGE₂	Prostaglandina da série E2
DL₅₀	Dose letal 50%
SNC	Sistema Nervoso Central
OVA	Ovoalbumina
IFN-γ	Interferon gama
IL-4	Interleucina 4
IL-10	Interleucina 10
i.p.	Intraperitoneal
s.c.	Subcutânea
v.o.	Via oral
TNF-β	Fator de necrose tumoral beta
LPS	Lipopolissacarídeos
IgE	Imunoglobulina E
Ca²⁺	Íon cálcio
CaM	Calmodulina
Ca_v	Canais de cálcio dependentes de voltagem
CFTR	Regulador transmembrana da fibrose cística
PKA	Proteína cinase A
Cl⁻	Íon cloreto
COX	Ciclooxigenase

DAG	Diacilglicerol
RyR	Receptores de rianodina
GDP	Difosfato de guanosina
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
GTP	Trifosfato de guanosina
AMP_c	3',5' - Monofosfato cíclico de adenosina
K⁺	Íon potássio
MLCK	Cinase da cadeia leve de miosina
MLCP	Fosfatase da cadeia leve de miosina
Na⁺	Íon sódio
HCO₃⁻	Íon bicarbonato
PIP₂	4,5-difosfato de fosfatidil inusitol
IP₃	1,4,5-trisfosfato de inusitol
PKC	Proteína cinase C
PKG	Proteína cinase G
PLCβ1	Fosfolipase C beta-1
PMCA	Trocador sódio-cálcio da membrana plasmática
SERCA	Ca ²⁺ -ATPase do retículo sarcoplasmático
TGI	Trato gastrintestinal

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 MOTILIDADE GÁSTRICA E INTESTINAL.....	14
2.1.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO TGI.....	14
2.1.2 MOTILIDADE E SECREÇÕES GASTRINTESTINAIS.....	17
2.2 DIARREIA.....	21
2.2.1 DEFINIÇÃO, ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA.....	21
2.2.2 FÁRMACOS COM AÇÃO ANTIMOTILIDADE E ANTIDIARREICOS....	21
2.2.3 MODELOS EXPERIMENTAIS.....	22
2.3 PLANTAS MEDICINAIS.....	23
2.4 ESPÉCIE SELECIONADA PARA ESTUDO.....	25
2.4.1 <i>Cissampelos sympodialis</i> EICHL.....	25
2.4.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS.....	26
2.4.3 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS PRÉ-CLÍNICOS.....	29
3. REFERÊNCIAS.....	35
4. ANEXO I – ARTIGO.....	45

1. INTRODUÇÃO

A busca pela superação dos males à saúde humana envolve a compreensão do processo saúde-doença, a relação causa-efeito, o conhecimento do agente etiológico e o contexto sócio-econômico e cultural em que o indivíduo se encontra (BATISTA et al., 2004).

Os distúrbios do trato gastrointestinal (TGI) a exemplo da úlcera péptica, dispepsia e a diarreia, são exemplos de agravos à saúde. As lesões ulcerativas constituem um problema mundial, com aumento da sua incidência e prevalência associado a fatores pertinentes ao cotidiano dos indivíduos, como estresse, infecção bacteriana por *Helicobacter pylori* e uso prolongado de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) (MEGALA; GEETHA, 2010).

A dispepsia é o termo utilizado para designar a falha no processo digestivo, tendo como características a dor crônica ou recorrente no abdome superior, plenitude abdominal superior completa e sensação precoce de saciedade durante a alimentação. Já a diarreia é um distúrbio do trato gastrointestinal que envolve a passagem frequente de fezes diarreicas que normalmente estar relacionada com o aumento na motilidade gástrica e intestinal, bem como a exacerbação na secreção de água e eletrólitos. O quadro dessa doença pode ser debilitante e até mesmo fatal para o indivíduo acometido, pois contribui para o quadro de desidratação, desequilíbrio hidroeletrolítico, desnutrição, imunossupressão e desenvolvimento de úlceras de pressão (TALLEY; VAKIL, 2005).

Este trabalho apresenta uma revisão da literatura dos aspectos etnobotânicos, químicos e farmacológicos da espécie *C. sympodialis* seguido de um artigo da investigação das atividades antimotilidade e antidiarreica que foram avaliadas pelos modelos de esvaziamento gástrico, trânsito intestinal e diarreia induzida por óleo de ricino.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 - Motilidade gástrica e intestinal

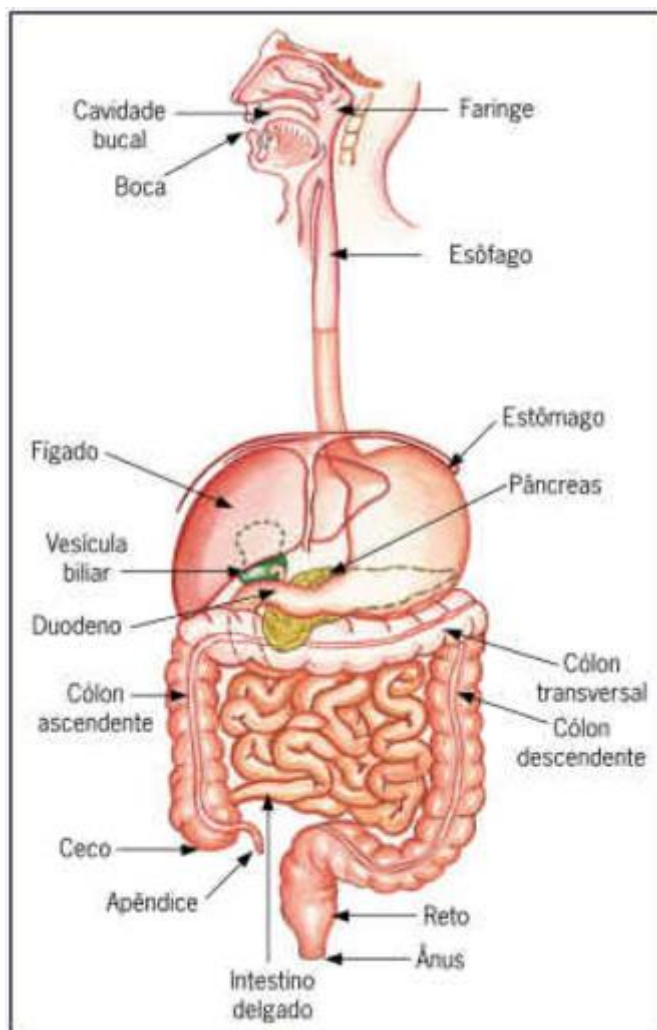
2.1.1 – Anatomia e fisiologia do TGI

O TGI é um longo tubo que vai desde a boca até o ânus tendo como principal função a digestão de alimentos e consequentemente a absorção de água e

nutrientes (figura 1). A função de digestão está correlacionada com três fenômenos fisiológicos que ocorrem de forma harmônica, são eles: a absorção, a secreção e a motilidade (SILVERTHORN, 2010; YIN; CHEN, 2010).

Define-se por motilidade o processo de movimentação do conteúdo alimentar (bolo alimentar, quimo ou quilo) no TGI como resultado das contrações da musculatura lisa intestinal. Especialmente as motilidades gástrica e intestinal são uma das mais importantes atividades fisiológicas do TGI. O distúrbio nessa motilidade como, por exemplo, um movimento desordenado provoca problemas como a má digestão e a não absorção dos nutrientes (SILVERTHORN, 2010; YIN; CHEN, 2010).

Figura 1 – Trato gastrointestinal (Fonte - disponível em: <www.ebah.com.br>).

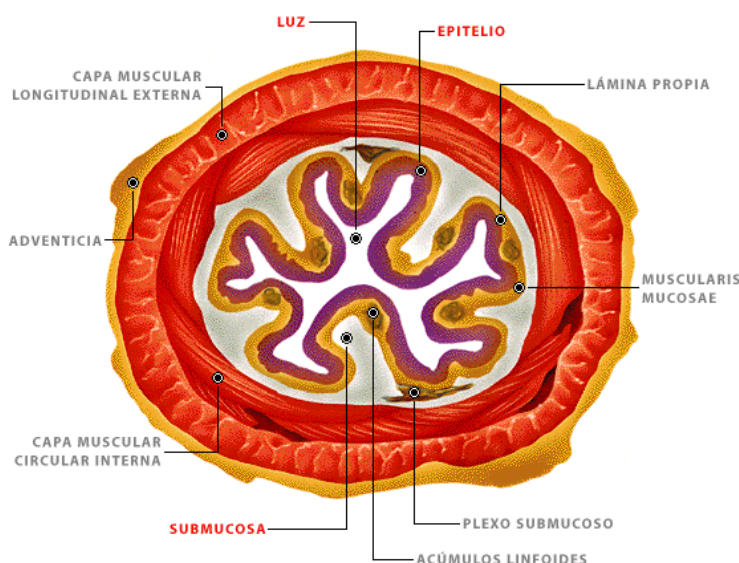


Dessa forma, o TGI encontra-se sobre intensa atividade contrátil e secretora, no intuito de proporcionar uma adequada digestão do alimento que está sendo ingerido (SILVERTHORN, 2010).

A parede do TGI possui quatro camadas (figura 2), a primeira camada é denominada mucosa que é a parte interna em contato direto com o alimento. Ela subdivide-se em camada epitelial, lâmina própria e camada muscular da mucosa. A segunda camada é a submucosa, uma camada média composta por tecido conjuntivo que possui vasos sanguíneos e linfáticos (KIM et al., 2001; SILVERTHORN, 2010).

Na submucosa localiza-se o plexo submucoso (também chamado de plexo de Meissner), uma rede de nervos do sistema nervoso entérico. Uma outra camada do TGI é a camada muscular, ela subdivide-se em circular interna e longitudinal externa, entre as camadas musculares localiza-se o plexo mioentérico (ou plexo de Auerbach). A contração da camada circular promove diminuição do diâmetro do tubo enquanto que a contração da camada longitudinal encurta o tubo. A última camada e a mais externa é a serosa, uma membrana de tecido conjuntivo que é uma continuação da membrana peritoneal. Para tanto, uma arquitetura celular complexa controla todos os processos do sistema digestório (KIM et al., 2001; SILVERTHORN, 2010).

Figura 2 – Camadas do TGI (Fonte - disponível em: <www.histologia-e.com>).



A primeira etapa da digestão iniciada no estômago é chamada de acomodação gástrica. Nessa etapa, o bolo alimentar chega por meio de contrações esofágicas ritmadas, o esfíncter esofágico inferior que encontra-se sobre controle tônico relaxa para permitir a passagem do bolo alimentar e a parte proximal do estômago (principalmente o fundo) distende-se para acomodar o ingerido sem produzir aumento na pressão gástrica. O alimento ao ser acomodado começará a ser misturado por ondas lentas e ritmadas que se originam no fundo do estômago e percorrem todo o órgão até a região próxima do duodeno e inicia-se o esvaziamento gástrico (KIM et al., 2001; GUYTON; HALL, 2006; HELLSTRÖM et al., 2006).

2.1.2 – Motilidade e secreções gastrintestinais

O esvaziamento gástrico inicia-se com o acúmulo de quimo movido pelas contrações lentas na região mais distal do estômago o que origina fortes contrações na região antral do estômago. Essa ação faz com que a pressão gerada seja maior que a exercida pelo esfíncter pilórico, e isso gera um sinal que causa relaxamento desse esfíncter que leva o quimo a ser movido até a primeira porção do intestino delgado, o duodeno (YIN; CHEN, 2010).

Estima-se que em indivíduos saudáveis uma refeição sólida é esvaziada em 50% em até 2h após a ingesta e em 95% após quatro horas. O tempo que o bolo alimentar permanece no estômago é suficiente para muitas enzimas atuarem sobre o alimento transformando-o em quimo, além disso, o ácido clorídrico secretado é um importante agente de inativação de microrganismos que chegam até o estômago (TOUGAS et al., 2000).

Alterações na coordenação do esvaziamento gástrico originam não só uma má absorção e digestão de alguns nutrientes, como também o desenvolvimento de algumas doenças.

A dispepsia funcional é uma doença na qual o retardo no esvaziamento gástrico é relatado em 25-40% dos pacientes com esta condição. Esse distúrbio é bem frequente em portadores de Diabetes Mellitus. Um estudo desenvolvido por Troncon e colaboradores (2001) mostrou que o indivíduo portador do Diabetes Mellitus apresenta, pelo menos, um distúrbio digestivo. A explicação para o aparecimento desses sintomas tem alguma relação com o fato do diabetes possuir

um caráter neurodegenerativo e, dessa forma, o sistema nervoso entérico que controla a motilidade gastrointestinal também seria afetado por essa doença.

Há também uma relação com o estímulo do esvaziamento gástrico e o desenvolvimento das úlceras duodenais, visto que a grande quantidade de conteúdo ácido não é neutralizado por completo na porção inicial no duodeno, por outro lado se o alimento permanece por muito tempo no estômago ocorre estimulação da secreção ácida gástrica podendo essa hipersecreção resultar em danos à mucosa gástrica (FÜLÖP et al., 2005; PALLOTTA et al., 2005; TALLEY et al., 2006; KHOMENKO et al., 2009).

Assim como o esvaziamento gástrico a motilidade do intestino delgado juntamente com a motilidade colônica desempenham papéis diferentes e importantes em se tratando da função do TGI.

A motilidade do intestino delgado é modulada por fatores nervosos e humorais, sendo o principal representante desse grupo o neurotransmissor ACh (GUYTON; HALL, 2006; EMMANUEL; ROY, 2007).

A ACh atua no receptor muscarínico, principalmente do tipo M_3 que acopla-se a proteína $G_{q/11}$. Com a ligação do agonista ao seu receptor ocorre mudança conformacional do mesmo que atrai a proteína G. A subunidade alfa da proteína G que encontra-se com o GDP ligado, troca o GDP pelo GTP. A ligação com o GTP força a dissociação da proteína G, liberando a subunidade alfa GTP-ligada e o dímero beta-gama. A subunidade alfa GTP-ligada ativa a $PLC\beta_1$ que hidrolisa o PIP_2 em IP_3 e DAG (SILVERTHORN, 2010; BRUNTON et al., 2011). Ainda segundo os mesmos autores o IP_3 difunde-se no citoplasma da célula atingindo os receptores de IP_3 no retículo sarcoplasmático o que leva a liberação de Ca^{2+} . O próprio cálcio liberado atua nos RyR e induz a liberação de mais cálcio, fenômeno esse conhecido como liberação de cálcio induzida por cálcio.

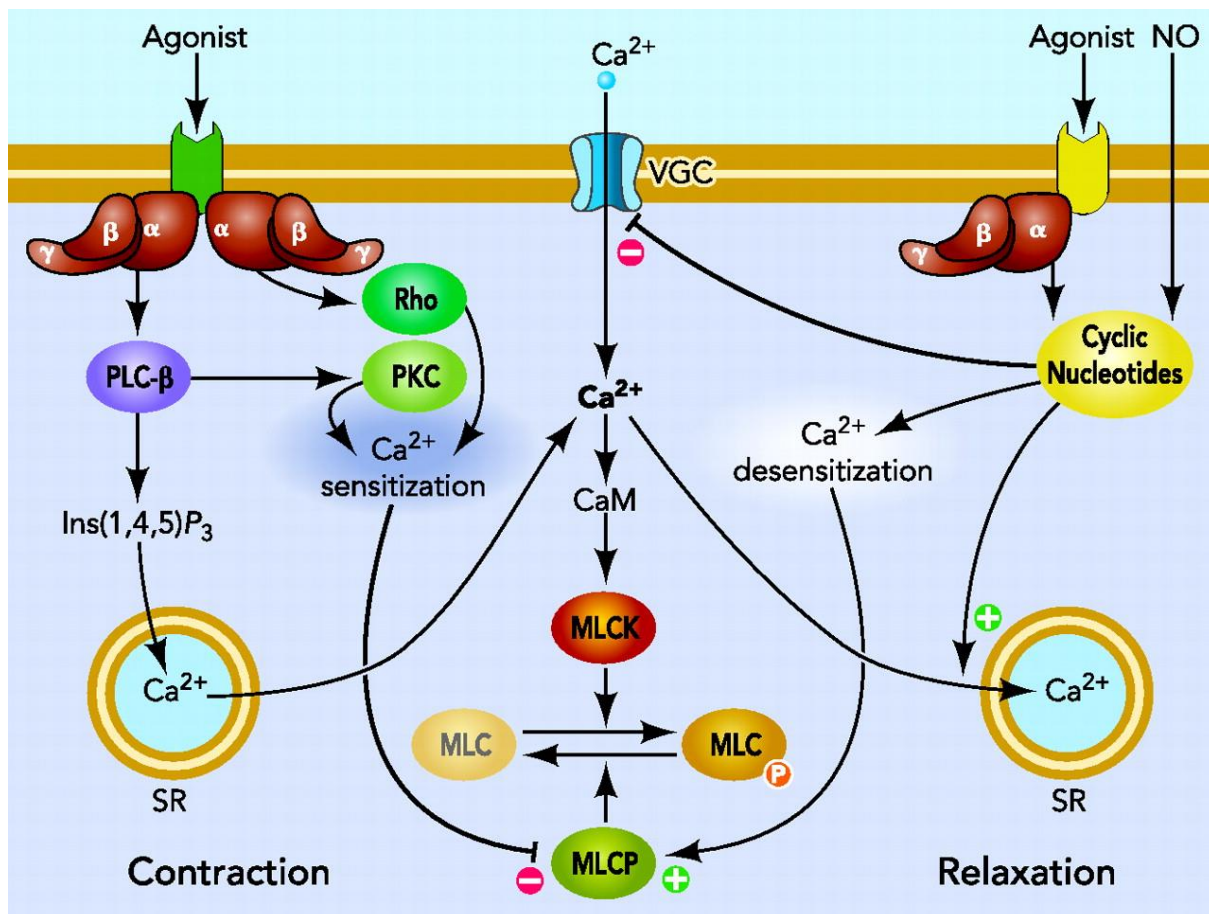
O aumento nas concentrações intracelulares de Ca^{2+} juntamente com o DAG ativam a PKC que fosforila canais de potássio na membrana celular inativando-os. O acúmulo de K^+ na região perimembranar leva a uma despolarização de membrana e abertura dos Ca_v gerando um influxo de cálcio na célula muscular lisa (SILVERTHORN, 2010; BRUNTON et al., 2011).

O cálcio se liga a uma proteína ligante de cálcio, a CaM na proporção 4:1. O complexo Ca^{2+} -CaM ativam a MLCK que fosforila a cadeia leve de miosina,

favorecendo assim a interação da mesma com a actina, formando as pontes cruzadas e as fibras musculares se contraem (figura 3) (SILVERTHORN, 2010; BRUNTON et al, 2011).

Já o relaxamento ocorre por diminuição da concentração de Ca^{2+} intracelular e essa diminuição deve-se à intensa atividade da SERCA que bombeia o cálcio do citosol para o interior do retículo, bem como da atividade da PMCA que bombeia sódio para o interior da célula e retira o cálcio. A atividade da MLCP também contribui no relaxamento do músculo liso (figura 3) (SILVERTHORN, 2010; BRUNTON et al, 2011).

Figura 3 – Contração e relaxamento do músculo liso (Fonte - disponível em: < physiologyonline.physiology.org>).



O processo de contração e relaxamento da musculatura lisa ocorre de maneira ritmada e é mediado pelas células intersticiais de Cajal, localizadas entre as camadas longitudinal e circular da camada muscular do músculo liso intestinal. As células de Cajal funcionam como um marcapasso que gera ondas lentas e fazem a

transmissão dos estímulos provenientes dos plexos submucoso e mioentérico permitindo que as informações sejam propagadas de forma rápida pelas junções comunicantes por toda fibra muscular (TACK, 2007; SILVERTHORN, 2010).

Com relação aos processos secretórios do epitélio intestinal, estes ocorrem predominantemente nas criptas de Lieberkühn. Os principais eletrólitos envolvidos são o Na^+ , Cl^- e HCO_3^- . O controle da secreção de Na^+ é realizado pelos colonócitos intestinais que controlam a secreção de NaCl por uma variedade de transportadores transmembrana. A secreção de íons Cl^- na membrana apical ocorre pela abertura de canais iônicos, o principal é o regulador transmembrana da fibrose cística (CFTR) (VANNUCCI; GUEDES, 2009; DONOWITZ, 2012).

Os mensageiros intracelulares, AMPc e GMPc regulam o funcionamento do CFTR por meio da ativação de PKA e PKG, respectivamente. A ativação dessas proteínas resultam na fosfoliração do CFTR, o que leva ao aumento da sua cinética de bombeamento. Dessa forma, processos patológicos que resultam no aumento da concentração intracelular de AMPc como é o caso da infecção pela bactéria *Vibrio cholerae* e a produção da enterotoxina colérica, promovem a ativação da PKA, abertura dos canais iônicos CFTR com consequente secreção de Cl^- para o lúmen intestinal, o sódio e a água seguem o cloreto pela via paracelular (VANNUCCI; GUEDES, 2009; DONOWITZ, 2012).

Algumas toxinas diminuem a quantidade de aquaporinas (AQ4) na membrana apical dos enterócitos, reduzindo a quantidade de água reabsorvida e induzindo assim, a diarreia secretória (VANNUCCI; GUEDES, 2009; DONOWITZ, 2012; ZHANG et al., 2012).

Outras importantes substâncias a exemplo da substância P, gastrina e serotonina, bem como inibidores, a noradrenalina, colecistocinina, NO, peptídeo YY, prostaglandinas, dopamina e peptídeo intestinal vasoativo também estão envolvidos nos processos secretórios e da motilidade gastrointestinal, atuando localmente ou de forma reflexa por meio de vias extrínsecas ou intrínsecas (KOEPPEN; STANTON, 2009; CHEN et al., 2010).

Caso haja um desequilíbrio tanto dos fatores que regulam a motilidade gástrica quanto a intestinal surgem complicações, merecendo destaque o aumento da motilidade gástrica e intestinal e o processo secretório o que resulta em diarreia.

2.2 – Diarreia

2.2.1 – Definição, etiologia e epidemiologia

A diarreia é um distúrbio potencialmente fatal do TGI que envolve a passagem frequente de fezes diarreicas, denominado de episódio diarreico. A evacuação de fezes amolecidas com frequência superior ou igual a três em um período de vinte e quatro horas é denominado de diarreia (ARNOLD et al., 2005).

A diarreia é uma afecção de etiologia multifatorial, atribuída a fatores como agentes infecciosos, toxinas de plantas e de microrganismos, distúrbios na motilidade gastrointestinal, aumento da secreção de fluidos gastrintestinais e medicamentos, em especial os quimioterápicos antineoplásicos que representam uma classe em que a diarreia é um efeito colateral quase sempre relatado. Eles atuam como agentes irritantes da mucosa intestinal provocando um desequilíbrio entre a absorção e a secreção no intestino. Outra classe de medicamentos que atuam agravando e tornando mais frequente o quadro de diarreia são os anti-retrovirais utilizado na terapêutica da infecção pelo HIV (ARNOLD et al., 2005; CALL et al., 2000; BEATTY, 2010).

Em países tropicais e subtropicais a diarreia é um dos maiores problemas de saúde da população. De acordo com os Institutos Nacionais de Saúde, um adulto pode ser afetado por cerca de quatro episódios de diarreia aguda em um ano, enquanto que crianças de cinco anos de idade em média, nos Estados Unidos, apresentam de 7-14 episódios diarreicos em um ano (GERALD et al., 2006; BLACK et al., 2008; AWE et al., 2011).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que ocorrem de 3-5 bilhões de casos anualmente, sendo um bilhão de casos acometendo crianças das quais 5% morrem, caracterizando a diarreia como um problema de saúde pública (UN, 2012; WHO, 2013).

As ações da OMS incluem a pesquisa com plantas medicinais com ênfase na atividade antidiarreica, como nova alternativa terapêutica para o tratamento da diarreia principalmente em países tropicais e subtropicais, além de ações educativas de prevenção em saúde (UN, 2012; WHO, 2013).

2.2.2 – Fármacos com ação antimotilidade e antidiarreicos

As substâncias antidiarreicas reduzem os sinais da diarreia, normalizando a consistência das fezes, a frequência da defecação e a massa fecal. Sua ação é produzida através de efeitos sobre o trânsito intestinal (motilidade) e a secreção de água e eletrólitos pela mucosa intestinal (BRUNTON et al., 2011).

Na terapêutica, os fármacos antidiarreicos geralmente utilizados são a loperamida e o difenoxilato, cujos mecanismos de ação envolvem o sistema opióide. A loperamida atua principalmente nos receptores μ e κ diminuindo a motilidade e a secreção do fluido gastrointestinal. Agentes adsorventes, como caolim e pectina, e agonistas $\alpha 2$ -adrenérgicos, como a clonidina também são utilizados (WANG et al., 2005; MARCOS; DUPONT, 2007).

Também estão sendo investigados agentes $\alpha 2$ -seletivos semelhantes, com transporte reduzido para o sistema nervoso central. Drogas que apresentam atividade anti-inflamatória também têm mostrado a propriedade de inibir a diarreia induzida por óleo de rícino, e isso sugere o envolvimento das prostaglandinas e do óxido nítrico no mecanismo diarreico do mesmo (FARTHING, 2000; ALTMAN, 2003; MARCOS; DUPONT, 2007).

Há agentes antidiarreicos inespecíficos, a exemplo do hidróxido de alumínio. A utilidade principal desses fármacos é oferecer alívio sintomático, por meio da diminuição da motilidade intestinal, nos casos brandos de diarreia aguda. Todos esses medicamentos devem ser evitados nas doenças diarreicas agudas causadas por microrganismos patogênicos, pois retardam a eliminação dos mesmos e aumentam o risco de infecções sistêmicas (BRUNTON et al., 2011).

2.2.3 – Modelos experimentais

Os modelos experimentais de trânsito intestinal normal e esvaziamento gástrico são amplamente utilizados no *screening* de drogas com potencial atividade antimotilidade. Normalmente esses modelos utilizam-se de marcadores, substâncias com coloração, para que possa ser mensurado o trânsito intestinal e o esvaziamento gástrico. O trânsito intestinal pode ser avaliado tanto pela administração do carvão ativado quanto do vermelho de fenol, já o esvaziamento gástrico é calculado pela quantidade de vermelho de fenol que fica retido no estômago por espectrofotometria (STICKNEY; NORTHUP, 1959; SCARPIGNATO, 1980).

Com relação aos modelos experimentais em animais de laboratório para avaliação da atividade antidiarreica existem três modelos clássicos de indução de diarreia: a administração de óleo de rícino, de prostaglandina E2 (PGE₂) ou da enterotoxina termolábil.

A indução de diarreia por óleo de rícino vem sendo bastante utilizada para estudar o potencial antidiarreico de plantas medicinais. O potencial diarreico do óleo de rícino deve-se ao ácido ricinoleico (ácido 12 - hidroxí-9-cis-octadecenóico) um metabólito ativo da mamona (*Ricinus communis* L.) que difere do ácido oleico por ter uma hidroxila no décimo segundo carbono (WATSON; GORDON, 1962; ZAVALA et al., 1998).

No lúmen intestinal, o óleo de rícino sob efeito de lipases intestinais que convertem os triglicerídeos em glicerol e ácido ricinoleico. O ácido ricinoleico atua promovendo irritação e inflamação da mucosa intestinal que tem como consequência a síntese e liberação de autacoides, NO e prostaglandinas. Acredita-se que o "enteropooling", termo que representa o aumento na secreção intestinal de fluido intestinal e consequentemente a diarreia envolva também a participação da via adenilil ciclase e aumento nos níveis de AMPc, ativação da PKA e fosforilação do CFTR. Os canais iônicos CFTR ativados promovem a secreção de cloreto para o lúmen intestinal, o sódio e a água seguem o cloreto pela via paracelular acarretando um acúmulo de água e eletrólitos. Como consequências, tem-se a estimulação da motilidade intestinal e aumento da secreção de fluidos e eletrólitos pela modulação de aquaporinas e canais iônicos como já foi descrito anteriormente (PIERCE et al., 1971; MASCOLO et al., 1994; CAPASSO et al., 1998; RATNAIKE et al., 2000).

2.3 - Plantas medicinais

Desde a antiguidade, os recursos naturais, em especial as plantas, têm sido um dos elos entre o homem e a natureza, pois os homens pré-históricos já faziam uso das plantas para amenizar o sofrimento dos males físicos que lhes acometiam. Médicos da antiguidade a exemplo de Hipócrates e Avicenna já prescreviam plantas medicinais como meio de cura. Em se tratando da antiguidade brasileira, as plantas eram utilizadas pelos indígenas em rituais de cura e os povos africanos faziam sua associação com rituais religiosos (MACEDO; FERREIRA, 2004; FERRO, 2006).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) mostra que cerca de 65-80% da população de países em desenvolvimento, devido à pobreza ou ao difícil acesso a medicina moderna, usam como medicamentos, extratos ou preparações oriundas de plantas para tratar suas enfermidades como: inflamações, úlceras pépticas, diarreia e outras diversas enfermidades (CALIXTO, 2005).

Vários fatores têm contribuído para o aumento da utilização de plantas medicinais por parte da população, como por exemplo, o alto custo do medicamento industrializado, o surgimento de efeitos colaterais dos mesmos, o sucateamento dos serviços públicos de saúde e a falta de acesso para um grande contingente da população.

Mesmo com a grande influência da indústria farmacêutica para a utilização de medicamentos industrializados de origem sintética, a população ainda recorre às práticas complementares em especial as plantas medicinais para cuidar da saúde, empregadas para aliviar ou mesmo curar algumas enfermidades. Baseado nesta premissa, o uso terapêutico de recursos naturais utilizados no cuidado humano passaram a ser incorporados como alternativas complementares ao processo saúde doença (ALVIM et al., 2004).

O Brasil é um país dotado de uma das maiores biodiversidade do planeta e desta forma ocupa uma posição privilegiada, tendo em vista que 20% de todas as espécies vegetais encontram-se aqui. As plantas medicinais da flora nativa brasileira são utilizadas devido ao grande respaldo no conhecimento popular que permite assim uma longa aceitação dessas espécies, no entanto é importante destacar que apesar do seu amplo uso há pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas (RODRIGUES et al., 2006; VEIGA-JÚNIOR; MELLO, 2008).

Em 2006, foi implantada no Brasil a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares em saúde, e entre elas a fitoterapia. Objetivando fortalecer as pesquisas com plantas medicinais nativas e garantir a acessibilidade dessa prática aos serviços de saúde em 2009, o Ministério da Saúde publicou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), uma lista com 89 espécies que serão priorizadas com pesquisas e investimentos garantindo assim segurança e eficácia de suas utilizações (BRASIL, 2006; BRASIL, 2009; CARVALHO, 2011).

Com base nessas afirmações, a pesquisa com plantas medicinais se torna importante, uma vez que irá validar as ações farmacológicas das mesmas. É

importante considerar que para estudar as possíveis ações biológicas de plantas, se faz necessária uma integração multidisciplinar, envolvendo as áreas da botânica, química, farmacologia e toxicologia e tem como fim viabilizar os estudos de eficácia e segurança das espécies vegetais na perspectiva de correlacionar os constituintes ativos às atividades farmacológicas (RATES, 2001).

Além da validação do conhecimento popular, o estímulo à pesquisa, produção e comercialização de espécies vegetais brasileiras gera trabalho, renda, desenvolvimento e integração regional, ou seja, possibilidades econômicas importantes ao desenvolvimento do país, visando à sustentabilidade (BRASIL, 2011). Dessa forma, os produtos naturais oferecem maiores oportunidades para encontrar moléculas potencialmente ativas que levem a novos fármacos úteis no tratamento de diversas afecções, entre elas os distúrbios do TGI como a úlcera péptica, a dispepsia e a diarreia (GULLO; HUGHES, 2005).

2.4 - Espécie selecionada para estudo

2.4.1 – *Cissampelos sympodialis* Eichl.

A espécie vegetal *Cissampelos sympodialis* Eichl. popularmente conhecida como “Milona”, “Abuteira”, “Jarrinha” e “Orelha-de-onça”, pertence a família Menispermaceae. Esta família foi classificada em Jussieu (1789) no seu “Genera Plantarum”. Compreende cerca de 72 gêneros e 400 espécies. Fitogeograficamente, suas espécies se distribuem por todos os continentes com predominância nas regiões de clima tropical e subtropical. Essa espécie é amplamente utilizada por tribos indígenas e na medicina popular no tratamento de infecções do trato geniturinário, doenças no trato respiratório e na diarreia (CORREIA, 1984). No Brasil, a família Menispermaceae é representada por 12 gêneros e 106 espécies distribuídas, em sua maior parte, na floresta amazônica (BARROSO, 1978).

O Brasil e alguns países africanos apresentam várias espécies do gênero *Cissampelos* do qual pertence à tribo *Cocculeae*, subtribo *Cissampelinae* e compreende 19 espécies das quais nove são presentes no Brasil e destas, três podem ser encontradas no estado da Paraíba: *C. sympodialis*, *C. glaberrima*, *C. ovalifolia*. Estas espécies são encontradas em diferentes tipos de habitat, solo e vegetação, ocorrendo principalmente em florestas úmidas da costa atlântica e em colinas (BARBOSA-FILHO; AGRA; THOMAS, 1997).

A espécie *C. sympodialis*, ilustrada na figura 4, é endêmica no Brasil, encontrada no Nordeste e Sudeste do país, do Ceará a Minas Gerais. Esta espécie ocorre frequentemente em áreas abertas sobre arbustos em solo arenoso, podendo ser distinguida principalmente pelo formato deltoide das folhas (BARBOSA-FILHO; AGRA; THOMAS, 1997).

Figura 4 - *Cissampelos sympodialis* (Foto: pertencente ao arquivo do grupo de farmacologia do TGI, fotografada pelo autor).



(SALES, 2013)

2.4.2 – Estudos fitoquímicos

O estudo fitoquímico da espécie *C. sympodialis* no Laboratório de Fitoquímica do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos levou ao isolamento de metabólitos secundários dessa espécie, sendo os flavonoides e os alcaloides os metabólitos mais estudados. Seis marcadores químicos e bioativos, quatro destes alcaloides são terciários: warifteína (1), metilwarifteína (2), simpodialina β ,N-óxido (3) (bisbenzilisoquinolínicos), milonina (4) (morfinâmico), e um quaternário, do tipo aporfínico: a laurifolina (5) (CÔRTES, 1995; FREITAS et al., 1996). O alcaloide isolado em maior quantidade foi a warifteína, que foi encontrada nas raízes com um alto rendimento, correspondente a 1,4%, permitindo assim um

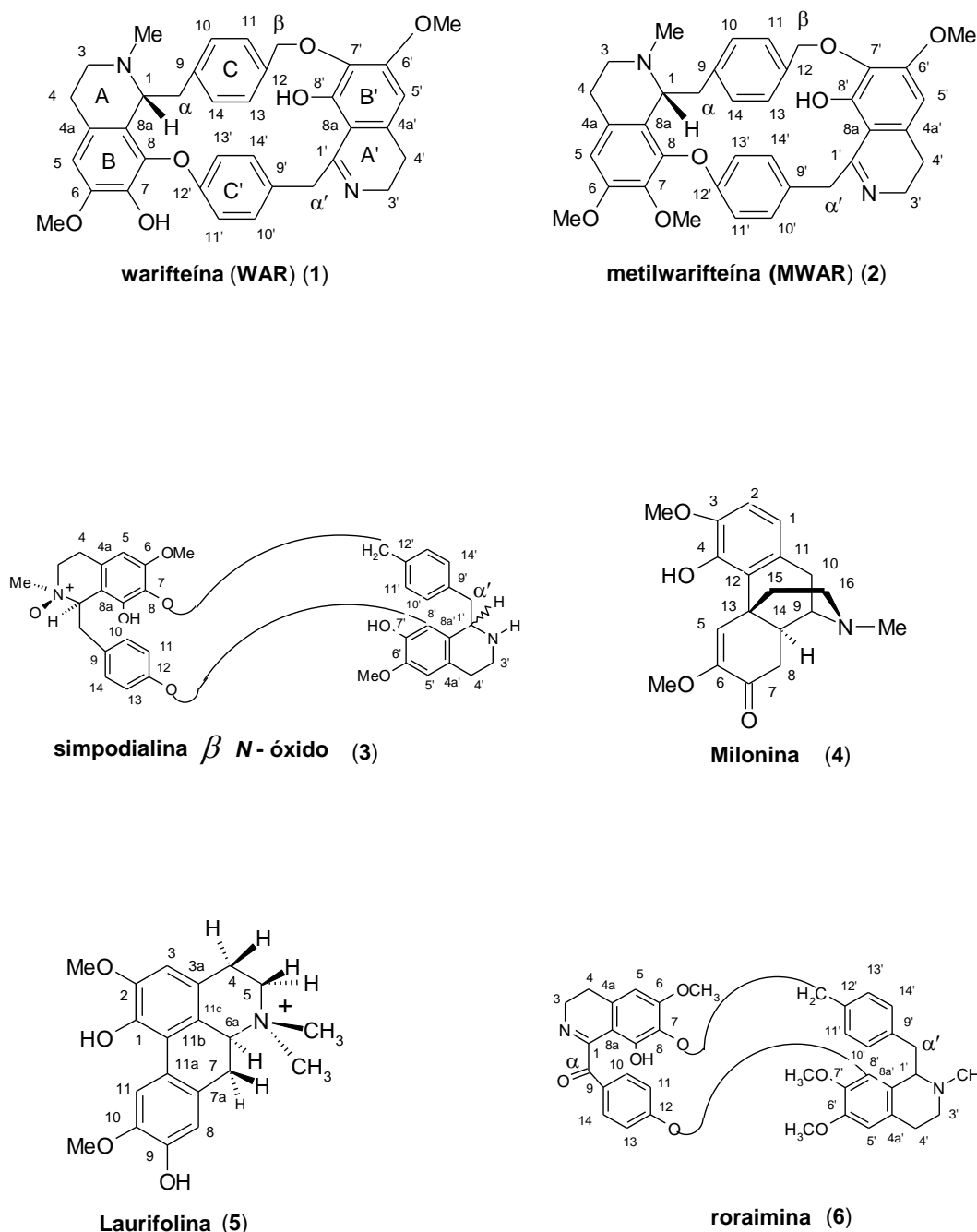
estudo farmacológico (BARBOSA-FILHO; AGRA; THOMAS, 1997). Na raiz da mesma planta, além destes cinco alcaloides ocorreu o isolamento e a elucidação estrutural de um novo alcaloide bisbenzilisoquinolínico, denominado de roraimina (6) (Figura 5). Recentemente foi isolada uma mistura de alcaloides diastereoméricos semelhantes à roraimina que foram denominados de des-7'-O-methylroraimina e epi-des-7'-O-methylroraimina que só vieram ter suas estruturas completamente elucidadas com auxílio da técnica de ressonância magnética nuclear (MARINHO et al., 2013).

Aragão e colaboradores (2002), nos estudos de tecnologia e controle de qualidade dos extratos de *C. sympodialis* propôs uma metodologia de identificação dos marcadores químicos dessa espécie, especialmente a milonina. Marinho (2011) também propôs uma metodologia para validação do método de quantificação simultânea dos marcadores químicos em extratos etanólicos (folhas, raízes e frutos) aplicados a estudo de sazonalidade. Na validação ficaram definidos como marcadores a warifteína, metilwarifteína e a milonina, sendo esse último alcaloide presente apenas nas folhas. No estudo de sazonalidade houve diminuição significativa da concentração de milonina, warifteína e metilwarifteína entre os meses de fevereiro e abril, período em que ocorre a frutificação da planta.

Os alcaloides são metabólitos secundários nitrogenados e com baixo peso molecular majoritariamente derivados de aminoácidos. Estima-se que estes metabólitos possam ser encontrados em 20% de todas as espécies vegetais estando envolvidos na defesa das plantas contra herbívoros e patógenos. São compostos quimicamente simples, estes agregam as mais diversas atividades biológicas como hipnoanalgésicos (morfina e codeína), anti-muscarínicos (atropina), estimulantes (cafeína), antimalárico (quinina), antibacteriano (sanguinarina), antitumorais (vincristina e vimblastina) e antiulcerogênicos (piperina, nicotina e matrina). Mais de 55 alcaloides são reportados como ativos em diferentes modelos de úlceras gástricas e duodenais. E essa atividade é mediada por mecanismos que envolvem a redução da secreção ácida gástrica, mecanismos antioxidantes e citoprotetores (BAI; XU, 2000; HENRIQUES et al., 2004; BLANKENSHIP et al., 2005; FAULKNER et al., 2006; FALCÃO et al., 2008; LUCH, 2009; AWAAD et al., 2013).

A atividade antidiarreica de plantas medicinais pode estar relacionada com o grupo de metabólitos secundários que são marcadores da espécie. Os alcaloides, especialmente, são compostos que apresentam atividade antidiarreica como, por exemplo, a morfina e a atropina. Esses metabólitos secundários agem inibindo a liberação de autacoides e prostaglandinas, em especial a PGE_2 que é um agente diarreico indutor de uma resposta secretória no intestino além de estimular a motilidade (RAMAKRISHNA et al., 1994; DE MEDINA et al., 1997).

Figura 5 - Alcaloides isolados de *Cissampelos sympodialis*



2.4.3 – Ensaios toxicológicos pré-clínicos

Os estudos toxicológicos realizados com o extrato hidroalcoólico de *C. sympodialis* sugerem baixo grau de toxicidade e os principais estudos já realizados com essa espécie envolvem a atividade anti-inflamatória e a antiasmática (BATISTA-LIMA et al., 2001; PIUVEZAM et al, 2012).

O potencial farmacológico da *C. sympodialis* é comprovado quando analisa-se as suas mais diversas aplicabilidades nos diversos campos da farmacologia, sendo as principais atividades farmacológicas estudadas a antiasmática, realizado por Thomas e colaboradores (1995) no qual foi visto que a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das raízes da *C. sympodialis* ocasionou significativo relaxamento em preparações de músculo liso de traquéia de cobraia. Em continuidade ao trabalho realizado, com a fração aquosa das folhas do extrato etanólico, foi verificada a redução do tônus espontâneo, inibindo as contrações induzidas por carbacol, histamina, prostaglandina F_{2α} e substância P em preparações de traquéia de cobraia. Também foi relatado um aumento nos níveis de AMPc em macrófagos broncoalveolares de cobaias (THOMAS et al., 1997).

Partiu-se então para a realização dos estudos com substâncias isoladas da espécie, o primeiro deles realizado com a warifteína, onde foi observada uma ação espasmolítica via antagonismo reversível, não específico e não competitivo à histamina, carbacol e bradicinina em íleo de cobraia. A warifteína também antagonizou contrações induzidas por dois agentes contracturantes (ocitocina e bradicinina) em útero de rata enquanto que, em traquéia de cobraia, o alcaloide inibiu o tônus espontâneo (CÔRTEZ et al., 1995).

No que diz respeito aos ensaios toxicológicos pré-clínicos, agudo, subagudo e crônico, foi realizado inicialmente estudos com o extrato hidroalcoólico das cascas das raízes de *C. sympodialis*. Por via oral, não foram detectados quaisquer efeitos tóxicos relevantes, em camundongos e ratos, em doses até 20 vezes maiores que a dose utilizada pela população no alívio de problemas respiratórios (9,0 mg/kg). A fração hidrossolúvel, do extrato etanólico das folhas, também mostrou não ocasionar letalidade em camundongos e ratos, em doses até 1000 mg/kg. No estudo subagudo no extrato etanólico foram utilizados cães que receberam a dose de 45 mg/kg (cinco vezes a dose utilizada na medicina popular) e não foram verificadas alterações nos parâmetros hematológicos nem bioquímicos (DINIZ et al., 1995; DINIZ, 2000).

Entretanto, a dose letal 50% (DL₅₀) do extrato etanólico das raízes foi de 117,5 mg/kg para camundongos, 138,0 mg/kg para ratos ambos por via intraperitoneal, e em cães, na dose de 5 vezes a de uso popular. Doses administradas em contrações 5 e 25 vezes maiores, em ratos, interferem sobre o SNC e induzem efeito anoréxico. Foram evidenciadas alterações hepáticas, mas que foram reversíveis com a suspensão da administração da planta. Foi detectado também o aumento de alfa-globulina sangüínea e, no pulmão, imunocooperação linfocitária e macrofágica (DINIZ et al., 1995).

O tratamento oral crônico com o extrato hidroalcoólico das folhas provocou efeito anoréxico em ratas da linhagem Wistar além de algumas alterações comportamentais como redução da locomoção e defecação, contrapondo-se com os resultados obtidos em estudos com camundongos BALB/c machos sensibilizados com ovoalbumina (OVA) que apresentaram ganho de peso, ao longo de todo o tratamento, sugerindo baixa toxicidade (ALMEIDA et al., 1998; BEZERRA-SANTOS et al., 2004).

O efeito anoréxico do extrato hidroalcoólico das folhas (doses de 45 a 225 mg/kg) pode estar relacionado com a atividade antidepressiva e parece ter relação com a existência de um receptor opióide presente apenas no fígado das ratas que possivelmente são ativados por alcaloides, como a milonina, já identificados em *Cissampelos sympodialis* (ALMEIDA et al., 1998; ALMEIDA et al., 2005) .

Freitas e colaboradores (2000) demonstraram que o mecanismo pelo qual a warifteína induz relaxamento do músculo liso está relacionado com a inibição de canais para cálcio bem como há uma modificação nos estoques intracelulares do íon cálcio sensíveis à noradrenalina. Em outro estudo foi comprovado que a fração aquosa das folhas do extrato hidroalcoólico da *C. sympodialis* inibiu o tônus espontâneo de traquéia de cobaia. De forma semelhante o extrato hidroalcoólico das raízes antagonizou as contrações induzidas por carbacol, capsaicina e ácido araquidônico em traquéia normal e por ovalbumina em traquéia de cobaias sensibilizadas. A fração aquosa das folhas ainda protegeu cobaias sensibilizadas contra choque anafilático induzido por albumina em aerossol.

Foi demonstrado que a fração aquosa das folhas do extrato hidroalcoólico da *C. sympodialis* inibiu as fosfodiesterases dos nucleotídeos cíclicos IV e V, obtidas de

pulmão de cobaias e aumentou a síntese intracelular de AMPc em culturas de células de músculo liso traqueal de cobaias (FREITAS et al., 2000).

Sobre a ação psicofarmacológica do extrato etanólico das folhas da *C. sympodialis* sobre o SNC, foi verificado que o mesmo potencializa a toxicidade do pentilenotetrazol em camundongos. Este extrato reduziu o período de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos e reverteu o grau de ptose e catalepsia induzidas por reserpina em ratos de maneira similar à imipramina, um antidepressivo tricíclico muito utilizado na clínica. Dessa forma, foi sugerido que a atividade antidepressiva provavelmente tenha relação com a atividade inibitória de fosfodiesterases desta planta, visto que o aumento dos níveis de nucleotídeos cíclicos, substratos dessas enzimas, no SNC gera na maioria das vezes, um quadro excitatório (ALMEIDA et al., 2005).

Piuevezam e colaboradores (1999) demonstraram que a fração aquosa das folhas do extrato etanólico da *C. sympodialis* inibiu as respostas proliferativas em células de baço de camundongos BALB/c induzidas por concanavalina, sem inibir a produção de citocinas por essas células. Foi observada uma redução dos níveis de interferon gama (IFN- γ) secretado e um aumento na síntese de interleucina 10 (IL-10) e de interleucina 4 (IL-4). Freitas e colaboradores (2000) verificaram que a mesma fração induziu respostas contrácteis em preparações isoladas de aorta de ratos, sugerindo uma ativação de α -adrenoreceptores. Tais contrações foram moderadas pela presença do endotélio vascular pelo envolvimento da liberação de óxido nítrico e produtos derivados da ação da ciclooxygenase (COX).

Sobre a atividade anti-inflamatória da fração aquosa do extrato etanólico das folhas da *C. sympodialis* foi demonstrado, em camundongos, que a fração (100 mg/kg i.p.), inibiu edema de orelha induzido por 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetato e capsaicina em 58% e 37%, respectivamente. A dose efetiva para inibir, o edema de pata de rato induzido por carragenina em 24% foi de 50 mg/kg, (i.p.). A administração da fração aquosa nas doses de 100 e 200 mg/kg, por via subcutânea (s.c.), em ratos, inibiu a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal induzida por carragenina em 53% e 50% respectivamente (BATISTA-LIMA et al., 2001).

O extrato hidroalcoólico das folhas da *C. sympodialis* inibiu a produção de IgE em camundongos BALB/c. Em macrófagos infectados com *Trypanosoma cruzi* foi

observado a inibição da produção de óxido nítrico com aumento na produção de IL-10 (ALEXANDRE-MOREIRA, 2001).

O estudo com camundongos BALB/c demonstrou que o extrato hidroalcoólico das folhas da *C. sympodialis* por via oral, nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg e por via i.p., na dose de 100 mg/kg, inibiram a formação de edema de pata, a produção de imunoglobulina OVA-específica, IgE total e IgE OVA-específica nos animais sensibilizados com OVA. O tratamento via oral com este extrato inibiu a proliferação de células de camundongos sensibilizados com ovalbumina, estimuladas com Con-A, OVA e/ou extrato, fato esse também verificado com a warifteína (i.p.) que inibiu a formação de edema de pata, imunoglobulina OVA-específica, níveis séricos de IgE total e IgE OVA-específica nos animais sensibilizados com OVA (SANTOS, 2002).

Em modelos experimentais de asma o extrato hidroalcoólico das folhas apresentou efeito imunomodulador, desviando a resposta imune para o perfil de citocinas tipo TH1 (LT CD4+ auxiliar “helper”) produtor de INF- γ , IL-2 e fator de necrose tumoral beta (TNF- β). O mesmo extrato inibiu o choque anafilático antígeno-induzido em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA (BEZERRA-SANTOS, 2005).

O tratamento *in vitro* com o extrato hidroalcoólico das folhas inibiu a resposta proliferativa das células B (LB) estimuladas com lipopolissacarídeos (LPS) bacteriano, anticorpos anti-IgM e anti-delta-dextran pelo aumento dos níveis de AMPc intracelular. Em culturas de LB em repouso (obtidos de animais normais) ou ativados (obtidos de animais infectados com *Trypanosoma cruzi*) inibiu a produção de IgM, sugerindo o uso terapêutico deste extrato em condições de desregulação da ação das células B e aumento da produção de imunoglobulinas (ALEXANDRE-MOREIRA et al., 2003).

Bezerra-Santos et al. (2006), demonstraram que o pré-tratamento por via oral tanto com extrato hidroalcoólico das folhas quanto com warifteína inibiu a migração de eosinófilos e neutrófilos para a cavidade pleural e broncoalveolar. Demonstrou também reduções dos níveis de eotaxina, do número de corpos lipídicos citoplasmáticos e da liberação de cistenil-leucotrienos de eosinófilos humanos, sugerindo um efeito modulador das funções dos eosinófilos.

O tratamento oral com a warifteína em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA foi capaz de inibir a formação do edema de pata induzido por OVA, reduzir

o título de IgE OVA-específica e retardar o choque anafilático em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados. A warifteína também inibiu a hiperplasia térmica em ratos possivelmente sensibilizados ou quimicamente estimulados. O tratamento *in vitro* com warifteína inibiu a proliferação de esplenócitos mediada pelo antígeno ou mitógeno, reduziu a degranulação de mastócitos induzida por IgE antígeno-específica e em macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c elevou os níveis de nitrito, metabólito do óxido nítrico, demonstrando que o tratamento com warifteína (*in vitro* e *in vivo*) induz um efeito modulador nas respostas alérgicas (COSTA et al., 2008).

O extrato hidroalcoólico das folhas de *C. sympodialis* e seus alcaloides: warifteína, metilwarifteína e milonina foram avaliados em modelos de alergia experimental administrados por via inalatória, o extrato e a metilwarifteína atenuaram o infiltrado inflamatório e reduziram o número de células T corroborando que essa espécie pode ser utilizada também por via inalatória para o tratamento da asma (VIEIRA et al., 2013).

O estudo da atividade do extrato hidroalcoólico e dos alcaloides warifteína e metilwarifteína em modelo de alergia alimentar induzida por OVA demonstrou que os alcaloides reduziram os episódios diarreicos, diminuíram os níveis de IgE, aumentaram as células T regulatórias e atenuaram o número de eosinófilos e de macrófagos. Dessa forma fica evidente a atividade desses alcaloides sobre as células T, fato esse já verificado também em outros estudos, que justificam os efeitos anti-inflamatórios como na alergia alimentar (COSTA et al., 2013).

Em estudos recentes realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia do Trato Gastrointestinal/UFPB, o extrato etanólico de *C. sympodialis* protegeu a mucosa gástrica das lesões agudas induzidas por diversos agentes (etanol, anti-inflamatório não-esteroidal e estresse) e este mecanismo gastroprotetor envolve a participação de óxido nítrico e grupamentos sulfidrílicos (SALES et al., 2011).

A revisão dos estudos pré-clínicos neste trabalho demonstram que, ainda sejam muitos os resultados farmacológicos e toxicológicos há muitas limitações devido à utilização de extratos não padronizados. Diante destas considerações, a espécie vegetal *Cissampelos sympodialis* Eichl. foi selecionada seguindo o critério quimiotaxonômico, visto a mesma é rica em alcaloides, metabólitos secundários com

alto potencial farmacológico, e que não há relatos de estudos farmacológicos com ênfase na atividade antimotilidade e antidiarreica dessa espécie bem como pelo critério etnofarmacológico, considerando a sua utilização na medicina popular para o tratamento da diarreia.

3. REFERÊNCIAS

- ALDERMAN J. Diarrhea in palliative care. J Palliat Med 8:449-450. 2005.
- ALEXANDRE-MOREIRA, M. S. - Estudo do mecanismo de ação de *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) sobre a atividade de linfócitos B e seu efeito antiinflamatório. 124f. Tese (Doutorado) - Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.
- ALEXANDRE-MOREIRA, M.S.; FREIRE-DE-LIMA, C.G., TRINDADE, M.N.; CASTRO-FARIA-NETO, H.C., PIUVEZAM, M.R.; PEÇANHA, L.M.T. *Cissampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae) leaf extract induces interleukin-10-dependent inhibition of *Trypanosoma cruzi* killing by macrophages, Braz J Med Biol Research, 36:199-205, 2003.
- ALMEIDA, R. N. Anorectic behavioral effects of chronic *Cissampelos sympodialis* treatment in female and male rats. Phyto Res, 345-362, 2005.
- ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; ASSIS, R. S.; MEDEIROS, I. A. de; THOMAS, G. - Antidepressant effect of an ethanolic extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* in rats and mice. J Ethnopharm. 63:247-252, 1998.
- ALTMAN, D. F. Fármacos utilizados nas doenças gastrointestinais. Em: KATZUNG, B. G. Farmacologia Básica e Clínica. 923-934, 2003.
- ALVIM, N. A. T.; FERREIRA, M.A.; FARIA, P. G.; AYRES, A.V. Tecnologias na enfermagem: o resgate das práticas naturais no cuidado em casa, na escola e no trabalho. In: Figueiredo NMA, organizadora. Tecnologias e técnicas em saúde: como e porque utilizá-las no cuidado de enfermagem. São Paulo (SP): Difusão Editora; 338-55, 2004.
- ARAGÃO, C.F.S.; SOUZA, F.S.; BARROS, A.C.S.; VERAS, J.W.E.; BARBOSA-FILHO, J.M. & MACEDO, R.O. Aplicação da Termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 12:60-61, 2002.
- ARNOLD, R.J.; GABRAIL N.; RAUT M. Clinical implications of chemotherapy-induced diarrhea in patients with cancer. J Support Oncol 3(3):227-232, 2005.

AWAAD, A.S.; EL-MELIGY, R.M.; SOLIMAN, G.A. Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *J Saudi Chem Soc* 17:101–124, 2013.

AWE, E.O.; KOLAWOLE, S.O.; WAKEEL, K.O.; ABIODUN, O.O. Antidiarrheal activity of *Pyrenacantha staudtii* Engl. (Iccacinaceae) aqueous leaf extract in rodents, *J Ethnopharmacol.* 137:148-158. 2011.

BAI, Y.F.; XU, H. Protective action of piperine against experimental gastric ulcer. *Acta Pharmacol. Sin.* 21:357-359, 2000.

BARBOSA-FILHO, J.M; AGRA, M.F; THOMAS, G. Botanical, chemical and pharmacological investigation on *Cissampelos sympodialis* species from Paraíba (Brazil). *Ciência e Cultura*, 49: 386-394, 1997.

BARROSO, G. M. Sistemática de angiospermas do Brasil. São Paulo, EDUSP, 56-58, 1978.

BATISTA, L. M., ALMEIDA, A. B. A., MAGRI, L. P., TOMA, W., CALVO, T. C., VILEGAS, W. & SOUZA-BRITO, A. R. M. Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus arthrotrichus* Silveira. *Biol Pharm Bul*, 27:328-332, 2004.

BATISTA-LIMA, K. V.; RIBEIRO, R. A.; BALESTIERI, F. M. P.; THOMAS, G.; PIUVEZAM, M. R. Anti-inflammatory activity of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) leaf extract. *Acta Farm Bon.* 20:275-279, 2001.

BEATTY, G. W.. Diarrhea in Patient Infected with HIV Presenting to the Emergency Department. *Emerg Med Clin N Am* 28:299–310, 2010.

BEZERRA-SANTOS, C. R., PIUVEZAM, M. R. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) oral treatment decreases IgE levels and induces a Th1-skewed cytokine production in ovalbumin-sensitized mice. *J Ethnopharm* 95:1197, 2004.

BEZERRA-SANTOS, C. R.; PEÇANHA, L. M. T.; PIUVEZAM, M. R. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) inhibits anaphylactic shock reaction in murine allergic model. *Braz J Pharmacog* 15(4):287-291, 2005.

BEZERRA-SANTOS, C. R.; PIUVEZAM, M. R. Anti-allergic properties of *Cissampelos sympodialis* and its isolated alkaloid warifteine. *Inter Immunopharm* 6:1152-1160, 2006.

BLACK, R.E.; ALLEN, L.H.; BHUTTA, Z.A.; CAULFIELD, L.E.; DE ONIS, M.; EZZATI, M.; MATHERS, C.; RIVERA, J. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet*, 371(9608):243-260, 2008.

BLANKENSHIP, J.D.; HOUSEKNECHT, J.B.; PAL, S.; BUSH, L.P.; GROSSMAN, R.B.; SCHARDL, C.L. "Biosynthetic precursors of fungal pyrrolizidines, the loline alkaloids". *Chembiochem* 6:1016–1022, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Medicamentos fitoterápicos. Nota técnica do comitê nacional de plantas medicinais e fitoterápicos a respeito do que foi veiculado sobre plantas medicinais e fitoterápicos na imprensa televisiva e escrita no último mês. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/206535804446b59789c29b703378b097/Nota+t%C3%A9cnica+n%C2%BA+1+do+CNPMF_06+10+2010.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 10 de janeiro de 2011.

BRASIL. Presidência da República. Decreto 5813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos e dá outras providências. 2006.

BRASIL. Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2009.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. Goodman e Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 12^a ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2011.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. *J Ethnoph*, 100:131–134, 2005.

CALL, S.A.; HEUDEBERT G.; SAAG M. The changing etiology of chronic diarrhea in HIV-infected patients with CD4 cell counts less than 200 cells/mm³. *Am J Gastroenterol* 11:3142–6, 2000.

CAPASSO, F.; PINTO, A.; MASCOLO, N.; AUTORE, G.; FRANCO, M. Effects of flavonoids on PGE₂ and LTD induced contractions on guinea pig isolated ileum. *Pharmacol Res Commun.* 20, 201–201. 1988.

CARVALHO, A. C. B. Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. 2011.

CHEN, Y.T.; TSAI, S.H.; SHEU, S.Y.; TSAI, L.H. Ghrelin improves LPS-induced gastrointestinal motility disturbances: roles of NO and prostaglandin E2, Shock. 33, 205–212. 2010.

CORREA, M. P. Dicionário de plantas uteis do Brasil e das exóticas cultivadas no Brasil. Imprensa Nacional Brasília, Rio de Janeiro/Brasília, 1984.

CÔRTEZ, S. de; ALENCAR, J. L.; THOMAS, G.; BARBOSA FILHO, J. M. - Spasmolytic actions of Warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from the root bark of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). Phytotherapy Research. 9:579-583,1995.

CÔRTEZ, S. de; ALENCAR, J. L.; THOMAS, G.; BARBOSA FILHO, J. M. - Spasmolytic actions of Warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from the root bark of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). Phyt Research. 9:579-583,1995.

COSTA H.F.; BEZERRA-SANTOS C.R.; BARBOSA FILHO J.M.; MARTINS M.A.; PIUVEZAM M.R. Warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid, decreases immediate allergic and thermal hyperalgesic reactions in sensitized animals. Inter Immunopharm, 8(4):519-525, 2008.

COSTA, H.F.; LEITE, F.C.; ALVES, A.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SANTOS, C.R.B.; PIUVEZAM, M.R. Managing murine food allergy with *Cissampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae) and its alkaloids. Inter Immunopharm, 17:300–308, 2013.

DE MEDINA, F.; GALVEZ, J.; GONZALEZ, M.; ZARZUELO, A.; BARRETT, K. Effects of quercetin on epithelial chloride secretion. Life Sci. 61, 2049–2055. 1997.

DINIZ, M. de F. F. M. Ensaios toxicológicos pré-clínicos com as folhas de *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). Tese (Doutorado) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2000.

DINIZ, M. de F. F.; THOMAS, G.; OLIVEIRA, G. de; LACERDA, D. A.; SALES, C. M. B. - Ensaios pré-clínicos de *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). Resume 1 Seminário Internacional de Farmacêuticos. Conselho Regional de Farmácia. São Paulo, Brasil; Abstract PM 108:27, 1995.

DINIZ, M.F.F.M.; SANTOS, H.B.; CUNHA, M.A.L.; DUARTE, J.C.; MORAIS, M.A.; MEDEIROS, I.A. Subacute toxicology studies on the aqueous fraction of the ethanol extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) in dogs. Rev Bras Farmacogn 12: 87-89, 2002.

DONOWITZ, M.; ALPERS, D.H.; BINDER, H.J.; BREWER, T.; CARRINGTON, J.; GREY, M.J. Translational approaches for pharmacotherapy development for acute diarrhea. Gastroenterol. 142(3):e1-9, 2012.

EMMANUEL A.; ROY A. Small intestine and colon motility. Medicin 35:272–6, 2007.

FALCÃO, H.S.; LEITE, J.A.; BARBOSA-FILHO, J.M.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; CHAVES, M.C.O.; MOURA, M.D.; FERREIRA, A.L.; ALMEIDA, A.B.A.; SOUZA-BRITO, A.R.M.; DINIZ, M.F.F.M.; BATISTA, L.M. Gastric and duodenal antiulcer activity of alkaloids: a review. Molec 13: 3198-3223. 2008.

FARTHING, M.J. Diarrhoea: a significant worldwide problem . Int J Antimicrobiol Agents, 14 :65-69, 2000.

FAULKNER, J.R.; HUSSAINI, S.R.; BLANKENSHIP, J.D.; PAL S.; BRANAN, B.M.; GROSSMAN, R.B.; SCHARDL, C.L. "On the sequence of bond formation in loline alkaloid biosynthesis". Chembiochem 7:1078–1088, 2006.

FERRO, D. História da Fitoterapia. In: Fitoterapia: conceitos clínicos. São Paulo, Editora Atheneu, 2006.

FREITAS, M. R.; LEMOS, V. S.; QUEIROGA, C. E. G.; THOMAS, G.; MEDEIROS, I. A.; CRTES, S. F. - Mechanisms of the contractile effect of the hydroalcoholic extract of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in the rat aorta. Phyt Int J Phyto Phytopharm. 7:63-67, 2000.

FREITAS, M. R.; LEMOS, V. S.; QUEIROGA, C. E. G.; THOMAS, G.; MEDEIROS, I. A.; CRTES, S. F. - Mechanisms of the contractile effect of the hydroalcoholic extract

of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in the rat aorta. *Phyt Int J Phyto Phytopharm.* 7:63-67, 2000.

FREITAS, M.R.; ALENCAR, J. L. de; DA-CUNHA, E. V. L., BARBOSAFILHO, J. M. Milonine, na 8,14-dihydromorphinandienone alkaloid from leaves of *Cissampelos sympodialis*. *Phytochem.* 40:1553-1555, 1996.

FÜLÖP, K.; ZÁDORI, Z.; RÓNAI, A. Z.; GYIRES, K. Characterisation of $\alpha 2$ -adrenoceptor subtypes involved in gastric emptying gastric motility and gastric mucosal defence. *Europ J Pharmacol*, 528:150-157, 2005.

GERALD, T.; KEUSCH, O.; FONTAINE, A. Disease control priorities in developing countries. 2nd ed. Washington (DC): World Bank; 2006.

GULLO, V. P.; HUGHES, D. E. Exploiting new approaches for natural product drug discovery in the biotechnology industry. *Drug discov Tod: Techn*, 2:281-286, 2005.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Textbook of medical physiology. In: Secretary function of the HELLSTRÖM, P.M.; GRYBÄCK, P.; JACOBSSON H. The physiology of gastric emptying. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 20:397–407, 2006.

HELLSTRÖM, PM.; GRYBÄCK, P.; JACOBSSON, H.; The physiology of gastric emptying. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol. Sep*; 20(3):397-407, 2006.

HENRIQUES, A.T.; LIMBERGER, R.P.; KERBER, V.A.; MORENO, P.R.H. In: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5 ed.; Simões, C. M. O. et al., Eds. Editoras of the Universidades Federais de Santa Catarina and Rio Grande do Sul: Porto Alegre/Florianópolis, Brazil. 29:765-792, 2004.

JUSSIEU, A.L. *Genera Plantarum*. Herissant, Paris, 1789.

KHOMENKO, T.; SZABO, S.; DENG, X.; ISHIKAWA, H.; ANDERSON, G. J.; MCLAREN, G.D. Role of iron in the pathogenesis of cysteamine-induced duodenal ulceration in rats. *Am J Physiol: Gastro & Liver Physiology*, 296:G1277-G1286, 2009.

KIM, D.Y.; DELGADO-AROS, S.; CAMILLERI, M.; SAMSOM, M.; MURRAY, J.A.; O'CONNOR, M.K., BRINKMANN, B.H., STEPHENS, D.A., LIGHVANI, S.S., BURTON, D.D. Noninvasive measurement of gastric accommodation in patients with idiopathic nonulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol.* 96:3099-105, 2001.

KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. Berne & Levy – Fisiologia. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 26-30:491 – 543, 2009.

LUCH, A. Alkaloids – biological activity. Molecular, clinical and environmental toxicology. Springer. ISBN 3-7643-8335-6, 20, 2009.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso-Brasil. Rev Bras Farmacog, 14:45-47, 2004.

MARCOS, L.A.; DUPONT, H,L. Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. J Infect. 55, 385-393, 2007.

MARINHO, A.F. Caracterização dos marcadores, desenvolvimento e validação de método analítico aplicado ao estudo de sazonalidade e identificação de novos alcalóides de *Cissampelos sympodialis*. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. 2011.

MARINHO, A.F.; OLIVEIRA, E.J.; TAVARES, J.F.; BRAZ-FILHO, R.; BARBOSA-FILHO, J.M. ¹H and ¹³C NMR assignments of two new isomeric bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) Magn. Reson. Chem. 51:312–315, 2013.

MASCOLO, N., IZZO, A.A., AUTORE, G., BARBATO, F., CAPASSO, F., 1. Nitric oxide and castor oil-induced diarrhea. J Pharmacol Exp. Ther. 268:291–295, 1994.

MASCOLO, N.; IZZO, A.A.; AUTORE, G.; BARBATO, F.; CAPASSO, F. Nitric oxide and Castor oil-induced diarrhea. J Pharmacol Exp Ther. 268, 291–295. 1994.

MEGALA, J. & GEETHA, A. Free radical-scavenging and H⁺, K⁺-ATPase inhibition activities of *Pithecellobium dulce*. Food Chem, 121:1120-1128, 2010.

PALLOTTA, N., PEZZOTTI, P., CALABRESE, E., BACCINI, F., CORAZZIARI, E., Relationship between gastrointestinal and extra-gastrointestinal symptoms and delayed gastric emptying in functional dyspeptic patients. World J. Gastroenterol. 11:4375–4381, 2005.

PIERCE, N.F.; CARPENTOR, C.C.J.; ELLIOR, H.; GREENOUGH, W.B. Effect of prostaglandin, theophyllin and cholera exotoxin upon transmucosal water and electrolyte movement in canine jejunum, *Gastroenterol.* 60, 22-32. 1971.

PIUVEZAM M.R., PECANHA L.M.T., ALEXANDER J., THOMAS G. Cissampelos sympodialis Eichl. leaf extract increases the production of IL-10 by concanavalin-A-treated BALB/c spleen cells. *J Ethnopharm.* 324-232, 1999.

PIUVEZAM, M. R.; BEZERRA-SANTOS, C. R.; BOZZA, P. T.; BANDEIRA-MELO, C.; VIEIRA, G.; COSTA, H.F. Cissampelos sympodialis (Menispermaceae): A Novel Phytotherapeutic Weapon Against Allergic Diseases?. *Alerg. Dis - Highlights in the Clin., Mechan. and Treat.*, 1:477-498, 2012.

RAMAKRISHNA, B.; MATHAN, M.; MATHAN, V. Alteration of colonic absorption by long- chain unsaturated fatty acids. Influence of hydroxylation and degree of unsaturation. *Scand J Gastroenterol.* 29, 54–58. 1994.

RATES, S. M. K. Plants as source drugs. *Toxicon*, 39:603-613, 2001.

RATNAIKE, R.; MILTON, A.; NIGRO, O. Drug-associated diarrhoea and constipation in older people. 1. Diarrhoea. *Aust J Hosp Pharm.* 30, 165–169. 2000.

RODRIGUES, A. G; SANTOS, M. G; AMARAL, A. C. F. Políticas públicas em plantas medicinais e fitoterápicos. In: Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da central de medicamentos. Brasília: (DF); 9 – 28, 2006.

SALES, I. R. P.; LIMA, G.R.M.; CALDAS-FILHO, M. R. D.; FALCAO, H. S.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BATISTA, L. M. . Gastroprotective effect of Cissampelos sympodialis Eichl. (Menispermaceae): role of sulphhydryl compounds and nitric oxide. *Experimental Pathology and Health Sciences - Research, clinics, teaching and society*, 5:130-130, 2011.

SANTOS, C. R. B. Cissampelos sympodialis Eichl. (Menispermaceae) inibe produção de imunoglobulina E (IgE) e proliferação celular em modelo experimental de asma. 85f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2002.

SCARPIGNATO, S.; CAPOVILLA, T.; BERTACCINI, G. Action of caerulein on gastric emptying of conscious rat. Arch Int Pharmacodyn. 246, 286-294, 1980.

SILVERTHORN, D. U. Fisiologia humana: uma abordagem integrada. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

STICKNEY, J.C.; NORTHUP, D.W. Effect of gastric emptying upon propulsive motility of small intestine of rats. Proc Soc Exp Biol Med. 101, 582-583, 1959.

TACK, J. Gastric motor disorders. Gastroenterol, 21:633-644, 2007.

TALLEY, N.J., LOCKE III, G.R., LAHR, B.D., ZINSMEISTER, A.R., TOUGAS, G., LIGOZIO, G., ROJAVIN, M.A., TACK, J., Functional dyspepsia, delayed gastric emptying, and impaired quality of life. Gut 55:933–939, 2006.

TALLEY, N.J.; VAKIL, N. Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol.10:2324–37, 2005.

THOMAS, G.; ARAÚJO, C. C.; AGRA, M. de F.; DINIZ, M. de F. F. - Preliminary studies on the hydroalcoholic extract of the root of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in guinea-pig tracheal strips and bronchoalveolar leucocytes. Phyto Res. 9473;477, 1995.

THOMAS, G.; BURNS F.; PYNE, S.; PYNE, N. J. Characterization of an extract from the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. on the spontaneous tone of isolated trachea. Phyto Res. 2:496-499,1997.

TOUGAS, G., EAKER, E.Y., ABELL, T.L., ABRAHAMSSON, H., BOIVIN, M., CHEN, J., HOCKING, M.P., QUIGLEY, E.M., KOCH, K.L., TOKAYER, A.Z., STANGHELLINI, V., CHEN, Y., HUIZINGA, J.D., RYDEN, J., BOURGEOIS, I., MCCALLUM, R.W. Assessment of gastric emptying using a low fat meal: establishment of international control values. Am J Gastroenterol. 95:1456–1462. 2000.

TRONCON, L.E.A.; LOPES, R.P.; SIMÃO, M.N.; IQUEGAMI, M.; ROSA-E-SILVA, L.; NOBRE-E-SOUZA, M.A.; FOSS, M.C. Frequência de sintomas digestivos em pacientes brasileiros com diabetes mellitus. Rev Ass Med Brasil 47(2): 157-64, 2001.

UNITED NATIONS (UN) Inter-agency Group for Child Mortality Estimation. Levels and trends in child mortality: report 2012. New York, UNICEF, 2012.

VANUCCI, F.A.; GUEDES, R.M.C. Fisiopatologia das diarreias dos suínos. *Ciência Rural*. 39:233-42, 2009.

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. *Rev Bras Farmacog*, 18:46-471, 2008.

VIEIRA, G.C.; DE LIMA, J.F.; DE FIGUEIREDO, R.C.B.Q.; MASCARENHAS, S.R.; BEZERRA-SANTOS, C.B.; PIUVEZAM, M.R. Inhaled *Cissampelos sympodialis* Down-Regulates Airway Allergic Reaction by Reducing Lung CD3+T Cells. *Phytother. Res*. 27: 916–925, 2013.

WANG, H.H.; SHIEH, M.J.; LIAO, K.F. A blind, randomized comparison of racecadotril and loperamide for stopping acute diarrhea in adults. *World J Gastroenterol*. 11(10):1540-3, 2005.

WATSON, W.C.; GORDON R. Studies on the digestion absorption and metabolism of castor oil. *Biochem Pharmacol*. 11, 229-236. 1962.

WHO. Global Health Observatory 2013 - Ending Preventable Child Deaths from Pneumonia and Diarrhoea by 2025. Disponível em: <http://www.who.int/gho/child_health/en/index.html>. Acesso em 05 de fevereiro de 2014.

YIN, J.; CHEN, J.D.Z. J. Gastrointestinal motility disorders and acupuncture. *Autonom Neuro: Bas Clin* 157:31–37. 2010.

ZAVALA, M.A.; PEREZ, S.; PEREZ, C.; VARGAL, R.; PEREZ, R.M. Antidiarrhoeal activity of *Waltheria americana*, *Commelins cuelestris* and *Alternanthera repens*. *J. Ethnopharmacol*. 61:41-47, 1998.

ZHANG, Y.; WANG, X.; SHA, S.; LIANG, S.; ZHAO, L.; LIU, L.; Berberine increases the expression of NHE3 and AQP4 in sennosideA-induced diarrhea model. *Fitoterapia* 83:1014–22, 2012.

4. ANEXO I - Artigo

O artigo em anexo será submetido ao periódico “Records of Natural Products”, ISSN: 1307-6167, qualis B2 na área de farmácia. Todos os resultados do artigo foram desenvolvidos a partir do projeto apresentado na disciplina trabalho de conclusão de curso (TCC).



Rec. Nat. Prod. X:X (2014)
XXX-XX

records of natural
products

Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) an evaluation of the antimotility and antidiarrheal activities *in vivo

Igor Rafael Praxedes de Sales¹, Heloína de Sousa Falcão¹, Gedson Rodrigues de Moraes Lima¹, Alexsandro Fernandes Marinho¹, José Maria Barbosa Filho² and Leônia Maria Batista^{2*}

¹*Laboratório de Farmacologia do Trato Gastrointestinal, Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Campus de João Pessoa, 58051-900, Cidade Universitária João Pessoa-PB, ,Brasil.*

²*Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Campus de João Pessoa, 58051-900, Cidade Universitária João Pessoa-PB, ,Brasil.*

(Received xxxxx, XXXX; Revised xxxxx, XXXX; Accepted xxxxx, XXXX)

Abstract: *Cissampelos sympodialis* (Menispermaceae), known as "Milona" have a special verified medicinal use for the treatment of diarrhea and respiratory tract diseases. This work aims to evaluate the antimotility and antidiarrheal activity of the crude ethanolic extract obtained from aerial parts of *C. sympodialis* (EtOHE-Cs). The intestinal normal transit and gastric emptying were used to evaluate the antimotility activity. Castor oil-induced diarrhea and castor oil-induced enteropooling were used to evaluate the antidiarrheal activity. The results have indicated that EtOHE-Cs did not demonstrate antimotility activity but has antidiarrheal activity (for the dose 500 mg/kg) this activity is related to reduction in intestinal fluid accumulation. The antidiarrheal activity can be attributed to chemical compounds already isolated and quantified in this species, mainly alkaloids.

Keywords: gastrointestinal motility, diarrhea; enteropooling and *Cissampelos sympodialis*.

1. Introduction

Diarrhea is a disease characterized by the increase of frequency in bowel movements, abdominal pain and discharge of semisolid or watery fecal matter from the bowel three or more times in a day. The liquid stools are justified by the increase in gastrointestinal secretions and motility^[1,2]. Control of gastrointestinal motility is very complex because it involves multiple signaling such as nitric oxide (NO), gastrin, grelin, prostagladins, 5-hydroxytryptamine (5-HT), dopamine, catecholamine and acetylcholine^[3]. The imbalance in the pathways mentioned above, infectious agents, plant toxins and inflammatory problems are the main causes of diarrhea^[4]. Worldwide, this disease affects around 2.2 million people annually, the most affected are children under the age of five years^[5]. Changes in gastric emptying coordination originate not only a poor nutrient digestion and absorption, but also the development of some diseases. The functional dyspepsia is a disease in which the delay in gastric emptying is reported in 25-40% of patients with this condition. There is also a relationship with the stimulation of gastric emptying and development of duodenal ulcers, since the acid content is not completely neutralized in the duodenum^[6,7,8,9]. Medicinal herbs constitute the major component of the traditional medicine practiced worldwide due their economical viability, accessibility and ancestral experience^[10]. Thus, the research for new therapies for gastrointestinal disorders (such as diarrhea) is very important.

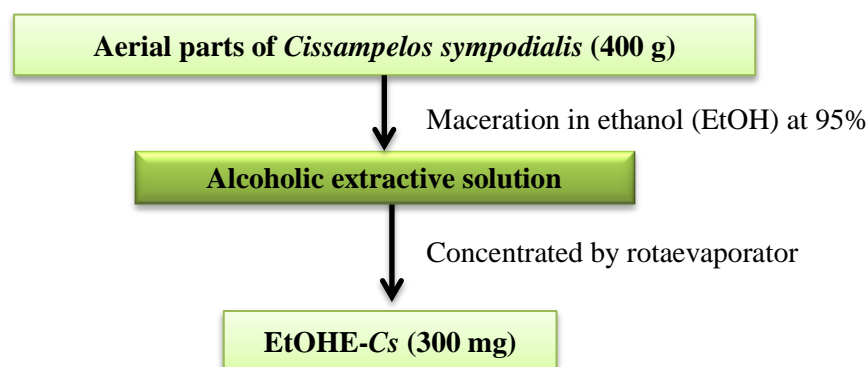
Cissampelos sympodialis Eichl. belongs to the family Menispermaceae and is a tree (photography 1) known as “milona”, “jarrinha” or “orelha-de-onça”. It is widely used by Indian tribes and in folk medicine to treat various diseases such as diarrhea, diseases of the genitourinary tract and especially in respiratory tract diseases such as asthma^[11]. This species was therefore selected by the criterion ethnopharmacological and chemotaxonomic.

Several chemical compounds belonging to the alkaloids class have been isolated from this species (leaves and roots), for example: bisbenzylisoquinolinic (warifteine, methilwarifteine, roraimine and simpodialine); morfinic (milonin); aporfinic (laurifolin) and oxoaporfinic (liriodenine)^[12,13]. Quality control studies showed that both AFL and AFR present alkaloids as major compounds, being warifteine the chemical marker of both^[14]. The alcoholic fraction of leaves (AFL) and roots (AFR) obtained from *C. sympodialis* showed spasmolytic activity on the smooth muscle of the trachea that involves synthesis of phosphodiesterase (PDE) and increased levels of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in guinea pig trachea muscle cells^[11]. Therefore, based on the popular use, spasmolytic activity “in vitro” and the abundance of alkaloids, our laboratory has been interested to evaluate the antimotility and antidiarrheal activities “in vivo” of crude ethanolic extract obtained from aerial parts of *C. sympodialis*.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material and extraction

Aerial parts of *C. sympodialis* were collected from the garden of “Centro de Biotecnologia” (CBIOTec/UFPB) and identified by Dra. Maria de Fátima Agra (Laboratório de Farmacobotânica - CBIOTec/UFPB). A voucher specimen was deposited in “Herbário Lauro Pires Xavier” with number: 1456. To obtain the crude ethanolic extract dried and pulverized material from aerial parts of *C. sympodialis* (4000 g) were subjected/submitted to maceration in ethanol 95% for 72 hours. After extraction, the extractive solution was concentrated in rotaevaporator under reduced pressure at temperature of 45°C yielding the crude ethanolic extract (EtOHE) (300 g) as shown in Scheme 1.



Scheme 1: Obtaining the crude ethanolic extract of *C. sympodialis*.

2.2 Experimental Animals

Swiss adult male mice (*Mus musculus*) weighing between 25-35 g were used for the experiments. The animals were from the “Biotério Professor Thomas George” (UFPB). The temperatures varied between 23-25°C with 12-hour light-dark cycle in the animal house. The animals were fed Labina, water *ad libitum*. For the experiments, they were randomly distributed in the different experimental groups. All experiments were started in the morning. The experimental procedures were approved by the “Comitê de Ética em Pesquisa Animal” (CEPA /CBIOTec/UFPB) recorded with number 0705/06, and follow international principles for research with laboratory animals^[15].

2.3 Chemicals/Drugs

Ethanol (Sigma-Aldrich), metoclopramide hydrochloride 10 mg (SANOFI-AVENTIS®, Brasil) loperamide hydrochloride 2 mg (JANSSEN-CILAG®, Brasil); phenol red (VETEC®, Brasil) and tween 80 (MERCK®, Germany).

2.4 Effect of *C. sympodialis* on normal intestinal transit

The method used was previously described by Stickney and Northup^[16], with some modifications. Adult mice were fasted for 12 hours and were randomly divided into six groups. Mice in the first group received tween 80 solution 12% - vehicle (10 mL/kg), the second group received metoclopramide (30 mg/kg) and the other groups received 62.5, 125, 250 and 500 mg/kg of EtOHE-Cs, respectively all by the oral pathway (p.o.). After 1 hour of administration of extract and drugs, a suspension of phenol red (0.05%) in carboxymethylcellulose (1.5%) (10 mL/kg) was given to each animal (p.o.). After 30 minutes, the animals were euthanized by cervical dislocation to remove the small intestine. The transit percentage was calculated on the basis of distance traveled by phenol red divided by the total length of the intestine, using the formula below.

$$\% \text{ transit} = (\text{distance traveled by phenol red}) / (\text{total length of the intestine}) \times 100$$

2.5 Effect of *C. sympodialis* on gastric emptying

Adult mice (fasted for 12 h) were randomly divided into seven groups. Mice in the first group received vehicle (10 mL/kg), the second group received metoclopramide (30 mg/kg) and the other

groups received 62.5, 125, 250 and 500 mg/kg of EtOHE-Cs, the seventh group (zero time control) received saline solution 0.9%, all by pathway oral (p.o.). After 1 h of administration of extract and drugs, a suspension of phenol red marker (0.05%) in carboxymethylcellulose (1.5%) (10 mL/kg) was given to each animal (p.o.). The zero time control group was euthanized (cervical dislocation) immediately after the administration of the marker and the other groups, after 30 min. The abdominal cavity was opened, the pylorus and the distal portion of the esophagus were clipped, the stomach was removed, opened and its contents were washed with 7 mL of distilled water. The gastric contents collected was centrifuged at 1500 revolutions per minute (rpm) during 15 min. and 1 mL of the supernatant was homogenized with 1 mL of 0.025N NaOH (pH = 12). After, 150 µL of the homogenate were pipetted in duplicate on ELISA plate and was made using a spectrophotometric reading at 560 nm filter. The results were expressed as percentage of gastric emptying compared to zero time control using the formula below^[17].

$$\% \text{ gastric emptying} = 100 - (\text{mean absorbance of sample} \times 100) / (\text{mean absorbance of the zero time control group})$$

2.6 Effect of *C. sympodialis* on castor oil-induced diarrhea

For evaluation the antidiarrheal activity used the methodology described by Awouters and collaborators^[18], with some modifications. Adult mice were fasted for 12 h and were randomly divided into six groups. Mice in the first group received vehicle (10 mL/kg), the second group received loperamide (5 mg/kg) and the other groups received 62.5, 125, 250 and 500 mg/kg of EtOHE-Cs, respectively all by pathway oral (p.o.). After 1 h of administration of extract and drugs, a castor oil was given to each animal (p.o./10 mL/kg). Following the administration of castor oil, the animals were placed in separate cages containing transparent blotting papers for observation of the total number of feces and their quantification (liquid, semi-solid and solid) during 4 h. After this time, all animals were euthanized by cervical dislocation. The following parameters were monitored: evacuation classification – 1 (normal stool), 2 (semi-solid stool), and 3 (watery stool) and evacuation index (EI), expressed according to the formula: $EI = 1 \times (\text{no stool 1}) + 2 \times (\text{no stool 2}) + 3 \times (\text{no stool 3})$.

2.7 Effect of *C. sympodialis* on castor oil-induced enteropooling

Animals (adult male mice) were fasted for 12 hours and were randomly divided into three groups. Mice in the first group received tween solution 80% - vehicle (10 mL/kg), the second group received loperamide (5 mg/kg) and the third, fourth received 500 mg/kg of EtOHE-Cs, the only dose that showed antidiarrheal activity, all by pathway oral (p.o.). After 1 h of administration of extract and standard drug, the animals were euthanized by cervical dislocation, laparotomized, the pyloric and caecal ends of the small intestine were tied and the intestines were removed. The contents of each intestine was measured in a graduated measuring cylinder and the volume was noted according to Ezeja e Anaga^[19].

2.8 Statistical analysis

The data were expressed as mean \pm standard deviation (SD). This data was subjected to an analysis of variance (ANOVA) followed by a Dunnett's test. The minimum allowable level of

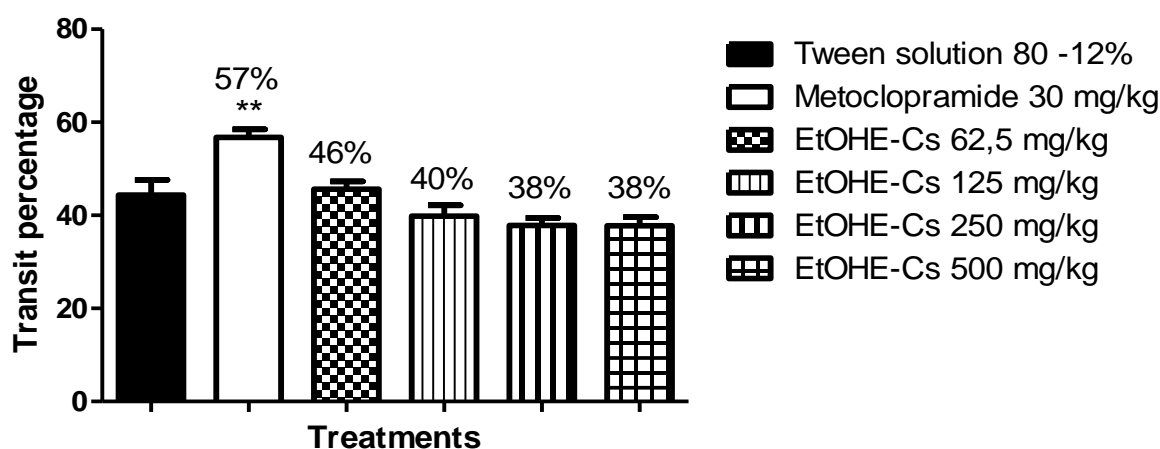
significance was $p < 0.05$ in all analyzes. For the data processing software was used INSAT (GaphPad Software® Inc., San Diego, CA, USA).

3. Results and Discussion

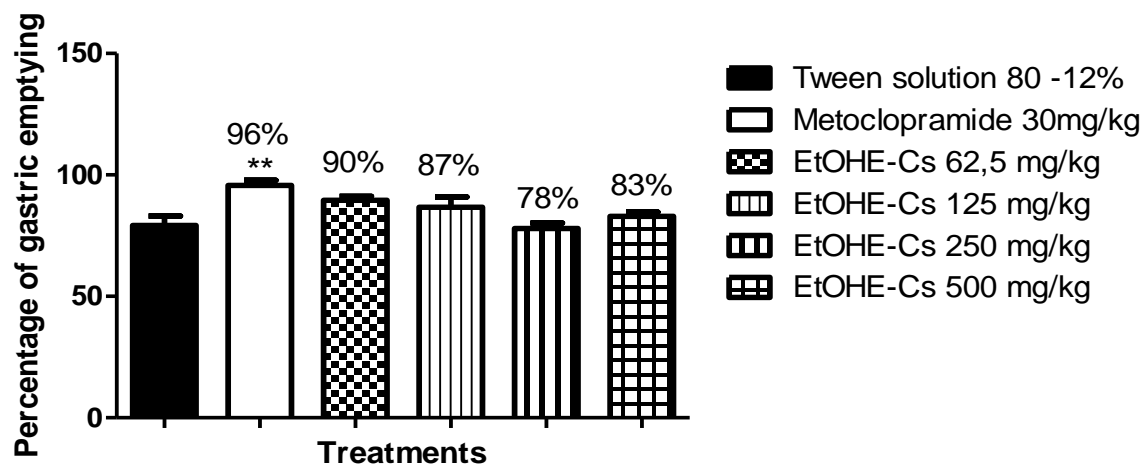
3.1. Effect of *C. sympodialis* on gastrointestinal motility: normal intestinal transit and gastric emptying

The antimotility activity of EtOH-Cs was investigated by measuring the normal intestinal transit and gastric emptying both in mice. Since earlier studies have reported that antimotility and antidiarrheal properties of medicinal plants were due to tannins, alkaloids, saponins, and sterols^[20]. Regardless of the species *C. sympodialis* be rich in alkaloids, the normal intestinal transit and the gastric emptying have not been altered at all doses evaluated (62.5, 125, 250 and 500 mg/kg of EtOHE-Cs), this results was expressed in the figure 1 and 2. These results suggest that EtOHE-Cs did not affect the gastrointestinal motility most likely not to present spasmolytic activity “in vivo”. Even showing no antimotility activity we started to investigate the antidiarrhoeal activity, because the diarrhea is not caused only by a phenomenon of deregulation of motility, it is also caused by microorganisms infection, hyper secretion of intestinal fluid and inflammatory bowel disease^[4].

Figure 1. Effect of oral administration of EtOHE Cs on the normal intestinal transit in mice



ANOVA: $F_{(5, 31)} = 9,47$ ($p < 0.05$) ($n = 5-7$) followed by Dunnett's test (** $p < 0.01$ compared to group 12 % Tween solution).

Figure 2. Effect of oral administration of EtOHE Cs on the gastric emptying in mice

ANOVA: $F_{(5, 27)} = 6,803$ ($p < 0.05$) ($n = 5-7$) followed by Dunnett's test (** $p < 0.01$ compared to group 12% Tween solution).

3.2. Effect of *C. sympodialis* on castor oil-induced diarrhea and enteropooling

Diarrhea is a disease that has many clinical signs such as hyperpropulsive motility of gastrointestinal tract and hypersecretion throughout the intestinal mucosa. Animal models are commonly used to induce experimental diarrhea and to study plants mechanisms of action and their active principles^[21].

Castor oil, prostaglandin E_2 (PGE_2) and heat-labile enterotoxin are commonly used agents to induce diarrhea in animals. The induction of diarrhea by castor oil is recommended to study the antisecretory and antimotility potential of medicinal plants. Castor oil diarrhea due to its active metabolite, ricinoleic acid that is released after the action of intestinal lipases^[22]. The liberation of ricinoleic acid results in irritation and inflammation of intestinal mucosa associated with release of nitric oxide, prostaglandin and other autacoids^[23, 24]. In this way, the enteropooling induced by castor oil functioning probably through stimulation of cyclic AMP/GMP production. Consequently leads to the stimulation of intestinal motility and increased secretion of fluid and electrolytes^[25, 26].

Table 1. Effect of oral administration of EtOHE Cs and loperamide on castor oil-induced diarrhea in mice

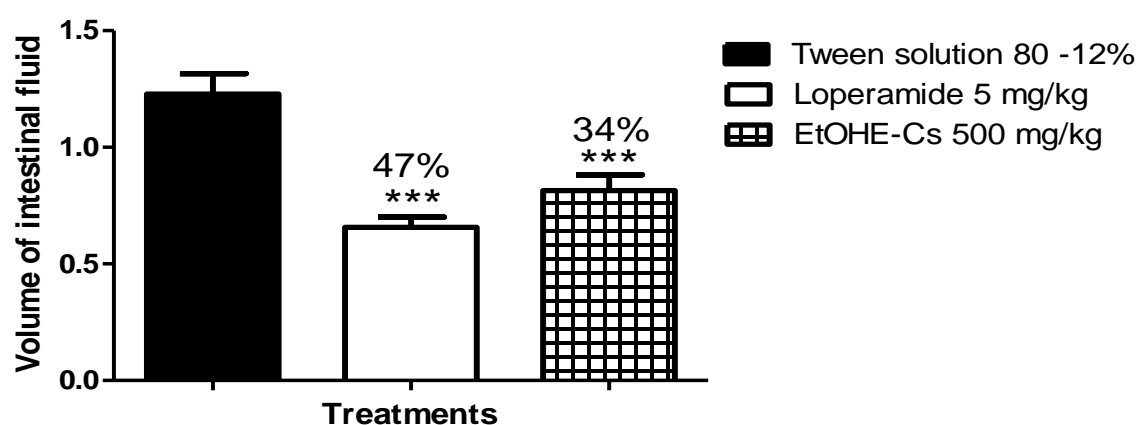
Treatment (p.o.)	Dose (mg/kg)	N	Evacuation Index (EI)
Vehicle	-	6	14,00 ± 2,53
Loperamide	5	6	0,3333 ± 0,5164**
EtOHE-Cs	62.5	7	11,14 ± 2,854
EtOHE-Cs	125	7	12,86 ± 3,338

EtOHE-Cs	250	6	11,83 ± 3,971
EtOHE-Cs	500	6	3,833 ± 1,169*

Data are presented as mean \pm standard deviation. Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ compared to group 12% Tween solution).

In castor oil induced-diarrheic animals the EtOHE-Cs in its highest dose (500 mg/kg) significantly reduced the total number of feces as can be seen in table 1.

Figure 3. Effect of oral administration of EtOHE-Cs on castor oil-induced enteropooling in mice



ANOVA: $F_{(2, 18)} = 18,93$ ($p < 0.05$) ($n = 7$) followed by Dunnett's test (*** $p < 0.001$ compared to group 12% Tween solution).

For the enteropooling study, the EtOHE-Cs 500 mg/kg significantly reduced the intraluminal fluid volumes of the intestinal contents (figure 3), suggesting that the antidiarrheal activity of *C. sympodialis* involves the reabsorption of water and electrolytes (such Na^+) and probably the involvement of prostaglandins^[27]. The antidiarrheal activity of *C. sympodialis* can be attributed to chemical compounds already isolated and quantified in this species, for example flavonoids and mainly alkaloids (warifteine and methylwarifteine)^[28], these compounds are known to inhibit the release of autacoids and prostaglandins^[29], this inhibition is important because prostaglandins (PGE_2) are known to induce a secretory response in the intestine and to stimulate gastrointestinal motility^[30].

Acknowledgments

The authors would like to express their gratitude to the CNPQ and UFPB by the financial support.

References

- [1] C.N. Ezekwesili, K.A. Obiora and O.P. Ugwu (2004). Evaluation of Anti-Diarrhoeal Property of Crude Aqueous Extract of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) In Rats, *Biokemistr.* **16**, 122-131.
- [2] M.M. Suleiman, T. Dzenda, C.A. Sani (2008). Antidiarrhoeal activity of the methanol stem- bark extract of *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Ethnopharmacology* **116**, 125–130.
- [3] Y.T. Chen, S.H. Tsai, S.Y. Sheu and L.H. Tsai (2010) Ghrelin improves LPS-induced gastrointestinal motility disturbances: roles of NO and prostaglandin E2, *Shock.* **33**, 205–212.
- [4] E.A. Susan and A. Mays (2005) Pharmacology. In: The Merck veterinary manual. Merck and Co. Inc, USA.
- [5] R.M.P. Gutiérrez, S. Mitchell, R.V. Solis (2008). *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* **117**, 1–27.
- [6] K. Fulop, Z. Zádori, A. Z. Rónai, K. Gyires, (2005). Characterisation of α 2-adrenoceptor subtypes involved in gastric emptying gastric motility and gastric mucosal defence. *Europ J Pharmacol*, **528**:150-157.
- [7] N. Pallota, P. Pezzotti, E. Calabrese, F. Baccini, E. Corazziari (2005). Relationship between gastrointestinal and extra-gastrointestinal symptoms and delayed gastric emptying in functional dyspeptic patients. *World J. Gastroenterol.* **11**:4375–4381.
- [8] N.J. Talley, G.R. Locke III, B.D. Lahr, A.R. Zinsmeister, G. Tougas, G.. Ligozio, M.A. Rojavin, J. Tack (2006). Functional dyspepsia, delayed gastric emptying, and impaired quality of life. *Gut* **55**:933–939.
- [9] T. Khomenko, S. Szabo, X. Deng, H. Ishikawa, G. J. Anderson, G.D McLaren (2009). Role of iron in the pathogenesis of cysteamine-induced duodenal ulceration in rats. *Am J Physiol: Gastro & Liver Physiology*, **296**:G1277-G1286.
- [10] G.H. Wendel, A.O.M. Maria and J.A. Guzmán, O. Giordano, L.E. Pelzer (2008). Antidiarrheal activity of dehydroleucodine isolated from *Artemisia douglasiana*, *Fitoterapia.* **79**, 1–5.
- [11] M.P. Corrêa (1984). *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas* (1). Instituto Brasileiro de Defesa Florestal, Rio de Janeiro.
- [12] G. Thomas, F. Burnes, S. Pyne and N.J. Pyne (1997). Characterization of the extract from the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) on spontaneous tone of isolated trachea, cyclic nucleotide phosphodiesterase activity and intracellular cAMP, *Phytother res.* **11**, 496-49.
- [13] G.A. De Lira, L.M. De Andrade, K.C. Florencio, M.S. Da Silva, J.M. Barbosa-Filho, J.M. and E.V. Leita Da-Cunha (2002). Roraimine: a bisbenzylisoquinoline alkaloid from *Cissampelos sympodialis* roots. *Fitoterapia.* **73**, 356-358.
- [14] M.R. Freitas, S.F. Cortes, G. Thomas and J.M. Barbosa Filho (1996). Modification of Ca^{2+} metabolism in the rabbit aorta as a mechanism of spasmolytic action of warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). *J Pharm Pharmacol*, **48**, 332-336.

- [15] C.F.S. Aragão, F.S. Souza, A.C.S. Barros, J.W.E. Veras, J.M. Barbosa-Filho and R.O. Macedo (2002). Aplicação da Termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. *Br J Pharmacol.* **12**, 60-61.
- [16] M. Zimmermann (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain.* **16**, 109-110.
- [17] J.C. Stickney and D.W. Northup (1959). Effect of gastric emptying upon propulsive motility of small intestine of rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* **101**, 582-583.
- [18] S. Scarpignato, T. Capovilla and G. Bertaccini (1980). Action of caerulein on gastric emptying of conscious rat. *Arch Int Pharmacodyn.* **246**, 286-294.
- [19] F. Awouters, C.J. Niemegeers, F.M. Lenaerts and P.A. Janssen (1978). Delay of castor oil diarrhoea in rats: a new way to evaluate inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *J Pharmacol.* **30**, 41-45.
- [20] M.I. Ezeja and A.O. Anaga (2010). Antidiarrheal activities of *Cochlospermum planchonii* (Hook f). *Intl J Toxicol & Pharmacol.* **2**, 40-44.
- [21] O.A. Loganga, A. Vercruysse and A. Foriers (2000). Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacology studies of traditionally used medicinal plant in the treatment of dysentery and diarrheal in Lomela area Democratic Republic of Congo (DRC). *J Ethnopharmacol.* **71**, 41-423.
- [22] B. P. Kota, A. W. Teoh and B. D. Roufogalis (2012). Pharmacology of Traditional Herbal Medicines and Their Active Principles Used in the Treatment of Peptic Ulcer, Diarrhoea and Inflammatory Bowel Disease, *New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology*, 297-310.
- [23] W.C. Watson and R. Gordon (1962). Studies on the digestion absorption and metabolism of castor oil. *Biochem Pharmacol.* **11**, 229-236.
- [24] N.F. Pierce, C.C.J. Carpenter, H. Ellior and W.B. Greenough (1971). Effect of prostaglandin, theophyllin and cholera exotoxin upon transmucosal water and electrolyte movement in canine jejunum, *Gastroenterol.* **60**, 22-32.
- [25] N. Mascolo, A.A. Izzo, G. Autore, F. Barbato and F. Capasso (1994). Nitric oxide and castor oil-induced diarrhea. *J Pharmacol Exp Ther.* **268**, 291-295.
- [26] F. Capasso, A. Pinto, N. Mascolo, G. Autore and M. Franco (1988). Effects of flavonoids on PGE₂ and LTD induced contractions on guinea pig isolated ileum. *Pharmacol Res Commun.* **20**, 201-201.
- [27] R. Ratnaike, A. Milton, O. Nigro (2000). Drug-associated diarrhoea and constipation in older people. 1. Diarrhoea. *Aust J Hosp Pharm.* **30**, 165-169.
- [28] J.M. Barbosa-Filho, M.F. Agra and G. Thomas (1997). Botanical, chemical and pharmacological investigation on *Cissampelos sympodialis* species from Paraíba (Brazil). *Ciência e Cultura*, **49**, 386-394.
- [29] F. De Medina, J. Galvez, M. Gonzalez, A. Zarzuelo and K. Barrett (1997). Effects of quercetin on epithelial chloride secretion. *Life Sci.* **61**, 2049-2055.

- [30] B. Ramakrishna, M. Mathan and V. Mathan (1994). Alteration of colonic absorption by long-chain unsaturated fatty acids. Influence of hydroxylation and degree of unsaturation. *Scand J Gastroenterol.* **29**, 54–58.



© 2010 Reproduction is free for scientific studies